



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



ESCUELA TÉCNICA
SUPERIOR INGENIEROS
INDUSTRIALES VALENCIA

TRABAJO FIN DE MASTER EN INGENIERÍA INDUSTRIAL

DISEÑO, DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE UN SISTEMA ROBOTIZADO PARA DOSIFICACIÓN DE MICROFLUIDOS

AUTOR: Eduardo Martínez Flores

TUTOR: Antonio José Sánchez Salmerón

Curso Académico: 2018-19

A mi familia por todo el apoyo, en especial a mis padres por ser el ejemplo a seguir.

A María José por la paciencia y el cariño.

A mi tutor por toda su ayuda e implicación en este trabajo.

RESUMEN

El presente proyecto consiste en el diseño, desarrollo y evaluación de un sistema robotizado que permita la dosificación controlada de pequeños volúmenes de líquidos mediante visión artificial en ensayos con *C. elegans*. Para la realización de este trabajo el alumno deberá conocer tanto a nivel teórico como práctico cómo se comporta un microfluido y como desarrollar el control de una pipeta y de un robot cartesiano. Para el estudio de microfluidos se realizará una simulación con la herramienta COMSOL y para el control se utilizarán motores paso a paso con un microcontrolador teensy. Estos objetivos llevarán al alumno a diseñar y realizar las piezas mediante impresión 3D para el montaje, la puesta en marcha y la evaluación de un prototipo.

Palabras clave: automatización, control, robótica, microfluidica, simulación multifísica y diseño 3D.

RESUM

El present projecte consistix en el disseny, desenrotllament i avaluació d'un sistema robotitzat que permeta la dosificació controlada de xicotets volums de líquids per mitjà de visió artificial en assajos amb *C. elegans*. Per a la realització d'este treball l'alumne haurà de conèixer tant a nivell teòric com a pràctic com es comporta un microfluid i com desenrotllar el control d'una pipeta i d'un robot cartesià. Per a l'estudi de microfluids es realitzarà una simulació amb la ferramenta COMSOL i per al control s'utilitzaran motors pas a pas amb un microcontrolador teensy. Estos objectius portaran a l'alumne a dissenyar i realitzar les peces per mitjà d'impressió 3D per al muntatge, la posada en marxa i l'avaluació d'un prototip.

Paraules clau: automatització, control, robòtica, microfluidica, simulació multifísica i disseny 3D.

ABSTRACT

The present project consists of the design, development and evaluation of a robotic system that allows the controlled dosing of small volumes of liquids by artificial vision in tests with *C. elegans*. For the realization of this work the student will have to know both at a theoretical and practical level how a microfluidic behaves and how to develop the control of a pipette and a Cartesian robot. For the study of microfluidics, a simulation will be carried out with the COMSOL tool and for the control, stepper motors will be used with a teensy microcontroller. These objectives will lead the student to design and make the pieces using 3D printing for the assembly, start-up and evaluation of a prototype.

Keywords: automation, control, robotics, microfluidics, multiphysics simulation and 3D design.

ÍNDICE

MEMORIA	10
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	11
CAPÍTULO 2. DESCRIPCIÓN DEL SISTEMA	13
CAPÍTULO 3. SIMULACIÓN MICROFLUÍDICA	16
CAPÍTULO 4. DISEÑO MECÁNICO DEL SISTEMA	33
CAPÍTULO 5. CONTROL DEL SISTEMA	49
CAPÍTULO 6. EVALUACIÓN Y VISIÓN DEL SISTEMA	61
CAPÍTULO 7. PRUEBA FINAL Y CONCLUSIONES	64
CAPÍTULO 8. TRABAJOS FUTUROS	67
BIBLIOGRAFÍA	69
LISTA DE MATERIALES	71
PRESUPUESTO	74
CAPÍTULO 1. PRESUPUESTO DE ELEMENTOS PROVEÍDOS	75
CAPÍTULO 2. PRESUPUESTO DE ELEMENTOS IMPRESOS	76
CAPÍTULO 3. PRESUPUESTO DE INGENIERÍA	77
CAPÍTULO 4. PRESUPUESTO TOTAL	78
PLANOS	79
1. Vista explosionada	79
2. Actuador del émbolo	79
3. Soporte de la micropipeta	79
4. Soporte de la cámara	79
5. Abrazadera	79
6. Esquema de la PCB	79
7. Board de la PCB	79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Aspecto de un <i>C. elegans</i> . Fuente: Juergen Berger / Max Planck Institute for Developmental Biology, Tübingen, Alemania	11
Figura 2. Descripción del sistema.	13
Figura 3. Micropipeta y partes que las componen. Fuente: catalogo Gilson “pipetman classic features”	13
Figura 4. Sistema disponible en el laboratorio.	14
Figura 5. Fases de crecimiento de los <i>C. elegans</i>	15
Figura 6. Observaciones de la tensión superficial en el sistema.	16
Figura 7. Comportamiento de la tensión superficial. Fuente: https://www.euston96.com/tension-superficial/	17
Figura 8. Temperatura vs tensión superficial. Fuente: Anselmo Vasquez “ https://slideplayer.es/slide/3276524/ ”	17

Figura 9. Interfaces de una gota hidrófila.....	18
Figura 10. Proceso capilar del sistema de pipeteo.....	19
Figura 11. Dimensión del espacio de simulación.....	20
Figura 12. Selección física.....	20
Figura 13. Modelo de estudio de la simulación.....	21
Figura 14. Geometría de la simulación.....	22
Figura 15. Definición de los materiales de simulación.....	23
Figura 16. Variables level set.....	24
Figura 17. Paredes humedecidas del sistema.....	25
Figura 18. Mallado del sistema.....	26
Figura 19. Ajustes temporales en la simulación.....	26
Figura 20. Iteraciones realizadas en el cálculo de la simulación.....	27
Figura 21. Fracción volumétrica del fluido 3D.....	28
Figura 22. Fracción volumétrica del fluido 2D.....	29
Figura 23. Presión en la gota.....	30
Figura 24. Velocidad en la gota.....	31
Figura 25. Método final para dejar el fluido sobre la placa.....	32
Figura 26. Diseño previo del sistema robotizado.....	33
Figura 27. Cámara para monitorización de los <i>C. elegans</i>	34
Figura 28. Estudio de contacto para el émbolo de la micropipeta.....	35
Figura 29. Solución para mejorar el contacto con émbolo.....	35
Figura 30. Sistema robotizado cartesiano definitivo.....	36
Figura 31. Perfiles t-slot.....	36
Figura 32. Varilla roscada T8.....	37
Figura 33. Posición de las varillas en el sistema cartesiano.....	37
Figura 34. Varilla lisa de 8mm.....	38
Figura 35. Posición de las varillas lisas en el sistema cartesiano.....	38
Figura 36. Correa dentada.....	39
Figura 37. Motor Nema 17.....	39
Figura 38. Motor NEMA 11.....	40
Figura 39. Acoplamientos flexibles.....	40
Figura 40. Carril lineal.....	41
Figura 41. Cámara raspberry con lente.....	41
Figura 42. Soporte de la micropipeta y el carril lineal.....	42
Figura 43. Abrazaderas de la micropipeta.....	42
Figura 44. Actuador del émbolo.....	43
Figura 45. Soporte de la cámara.....	43
Figura 46. Giro del soporte de la cámara.....	44
Figura 47. Ensamblaje del sistema de dosificación.....	44
Figura 48. Ejemplo de configuración de una pieza con Cura.....	46
Figura 49. Ejemplo de configuración de una pieza con Pronterface.....	47
Figura 50. Proceso de impresión 3D del actuador del émbolo.....	47
Figura 51. DRV A4988 Fuente: https://www.pololu.com/product/1182	49
Figura 52. Esquema de funcionamiento del driver A4988. Fuente: https://www.pololu.com/product/1182/pictures	50
Figura 53. Placa teensy 3.6. Fuente: https://www.digikey.es/es/product-highlight/s/sparkfun/teensy-3-6-development-boards	51
Figura 54. Esquema de conexión de la placa teensy 3.6. Fuente: https://www.pjrc.com/teensy/pinout.html	52
Figura 55. Conexiones del sistema de automatización desde protoboars.....	52
Figura 56. PCB.....	53
Figura 57. Esquema del circuito con Eagle.....	54
Figura 58. Board de la PCB.....	55

Figura 59. Proceso de fabricación de la PCB.....	55
Figura 60. Diagrama de bloques de la rutina de control.	56
Figura 61. Equipo para la visión de microfluidos.....	61
Figura 62. Diagrama de bloques del control de la cámara	62
Figura 63. Punta de la micropipeta enfocada con la lente.	63
Figura 64. Rotura de la tensión superficial.	63
Figura 65. Población de <i>C. elegans</i> moviéndose libremente por la superficie.....	64
Figura 66. Dosificación de un <i>C. elegans</i>	65
Figura 67. Dosificación de un grupo de <i>C. elegans</i>	65
Figura 68. Reconocimiento de abejas mediante opencv. Fuente: https://go-bees.readthedocs.io/es/develop/documentacion/5_AspectosRelevantes.html	67
Figura 69. Layout de un joystick para Teensy. Fuente: https://www.pjrc.com/teensy/td_joystick.html	68

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Variables de flujo laminar.	23
Tabla 2. Variables level set.....	24
Tabla 3. Tiempos de impresión de las piezas.....	48
Tabla 4. Especificaciones del driver A4988.....	49
Tabla 5. Resolución de los pasos del motor. Fuente: https://www.pololu.com/product/1182	50
Tabla 6. Especificaciones clave de TeensyStep. Fuente: https://luni64.github.io/TeensyStep/	56
Tabla 7. Lista de materiales (BOM).....	73
Tabla 8. Presupuesto de elementos proveídos.....	75
Tabla 9. Presupuesto de elementos impresos.....	76
Tabla 10. Presupuesto de ingeniería.....	77
Tabla 11. Presupuesto total.....	78



MEMORIA

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

El siguiente Trabajo de Master (en adelante TFM) surge de la necesidad de automatizar el proceso de pipeteo para estudios médicos en el Hospital Universitario y Politécnico de la Fe. Para ello esta institución encargó el proyecto al instituto de automática e informática industrial de la Universidad Politécnica de Valencia mediante el convenio de investigación CRIBA en el programa UPV-LaFe. Son en estas instalaciones desde donde el proyecto ha sido realizado. Por lo que presente TFM tiene como objetivo el de desarrollar un sistema funcional con el que poder manipular una micropipeta para aplicaciones médicas, en concreto para la dosificación de la especie *Caenorhabditis Elegans* (en adelante *C. elegans*). Este diminuto gusano se utiliza desde hace ya algún tiempo en los laboratorios de todo el mundo para estudiar la genética del desarrollo y el sistema nervioso. Estos gusanos se mantienen con vida en placas de Petri con E.coli como fuente de alimento, en estas condiciones y a temperaturas óptimas los ejemplares tienen un ciclo de vida de hasta tres semanas.



Figura 1. Aspecto de un *C. elegans*. Fuente: Juergen Berger / Max Planck Institute for Developmental Biology, Tübingen, Alemania.

Con el objetivo de manipular estas especies se utilizan micropipetas, el uso de estos dispositivos está muy extendido en los laboratorios de todo el mundo, por lo que enfocar este proyecto a un uso práctico más global podría suponer un adelanto en la utilización de estos instrumentos. Es por esto que las micropipetas, si se automatizan, podrían ser utilizadas de una forma más exacta, cómoda y fiable. A pesar de que de que en el proyecto de investigación CRIBA se pretende dosificar *C. elegans*, este TFM se orienta a la dosificación de microfluidos en general.

En resumen el contenido del presente TFM trata del diseño, desarrollo y evaluación de un sistema de dosificación de microfluidos cuya meta es la clasificación de *C. elegans* para aplicaciones médicas.

1.1. Antecedentes de manipulación de *C. elegans*:

Actualmente con el constante desarrollo de la biotecnología es de suma importancia la capacidad de controlar una serie de experimentos que se realizan sobre animales en diferentes áreas como la medicina, la alimentación y la cosmética. Estos experimentos permiten evaluar infinidad de sustancias con propiedades terapéuticas y/o saludables.

C. elegans, es un modelo animal extremadamente flexible, ya que es igualmente válido para probar sustancias con propiedades terapéuticas, como ingredientes funcionales, extractos naturales, probióticos, mezclas e incluso alimentos y bebidas integrales.

Los experimentos llevados a cabo con *C. elegans* requieren de una gran dedicación de personal experto en la manipulación e inspección de estos pequeños nematodos. Este trabajo manual es inmenso, ya que cada condición de estos experimentos requiere de cientos de *C. elegans* que deben ser manipulados y monitorizados diariamente. Por ello, surge la necesidad de desarrollar nuevas tecnologías de automatización para manipular y monitorizar *C. elegans* en experimentos de longevidad (lifespan), crecimiento, ensayo energizante, ensayo de estrés oxidativo agudo, etc.

Actualmente, se están aplicando tecnologías automáticas de micromanipulación y microinspección en diversos sectores como, por ejemplo, en microfabricación (Sánchez 2005-2012; Qin, 2010; Percoco, 2015-2017; Frangione, 2019). Sin embargo, el desarrollo de nuevas tecnologías de automatización de ensayos con *C. elegans* ha empezado a explorarse con intensidad recientemente.

Algunos trabajos de investigación realizados, para intentar automatizar los procesos de monitorización de los *C. elegans* son (Stroustrup 2013; Churgin 2017; Puchalt, 2019). Además, en los últimos años, están surgiendo alternativas que plantean métodos disruptivos del cultivo de nematodos como son el uso de micro canales controlados por microfluidos (deCarlos, 2012; Yoon, 2016).

El presente TFM se ha desarrollado dentro del contexto del proyecto de investigación CRIBA (UPV-LaFe) que tiene como objetivo diseñar, desarrollar y evaluar dispositivos capaces de dosificar y separar automáticamente diferentes cepas de *C. elegans* en vivo. En el presente TFM se ha analizado la posibilidad de resolver estos problemas mediante un sistema robotizado de pipeteo diseñado específicamente para microdosificación de agua o M9 con *C. elegans*.

CAPÍTULO 2. DESCRIPCIÓN DEL SISTEMA

A continuación se proporcionará una visión global del sistema mediante un diagrama de bloques junto a una breve descripción de cada parte que conforma el desarrollo del proyecto:

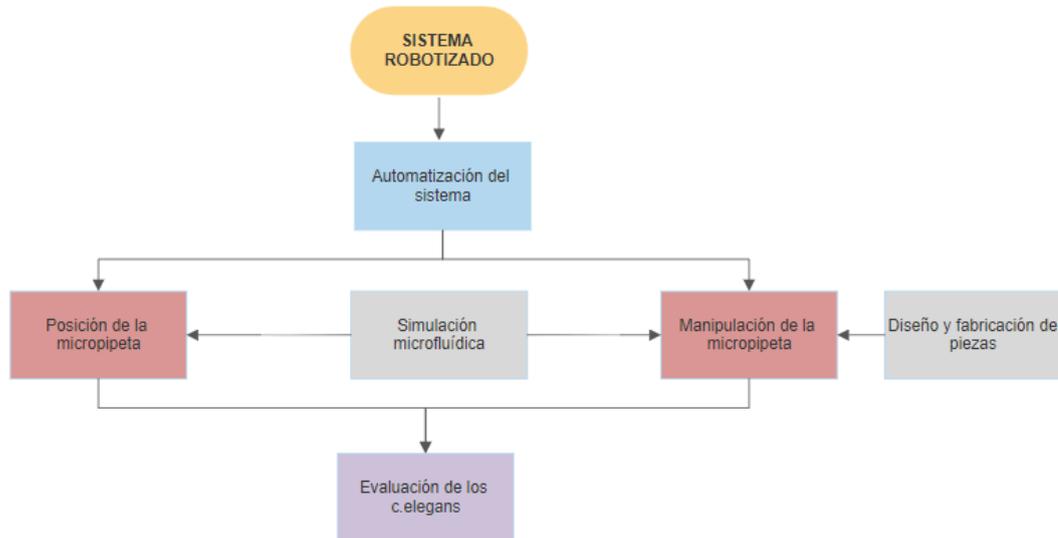


Figura 2. Descripción del sistema.

- **Automatización del sistema:** abarca desde el control de los motores que definen la posición de la micropipeta hasta la manipulación de la misma. Para ello se dispondrá un microcontrolador y de varios drivers. Las micropipetas permiten al usuario coger volúmenes del orden de microlitros, para ello se utilizan puntas normalizadas que definen el diámetro de entrada del conducto. Para realizar la acción del pipeteo se debe apretar el émbolo hasta el final con una resistencia considerable que ejerce un muelle dentro del dispositivo, esto afectará a la elección del motor que active este mecanismo. Las partes de una pipeta se muestran en la siguiente imagen.

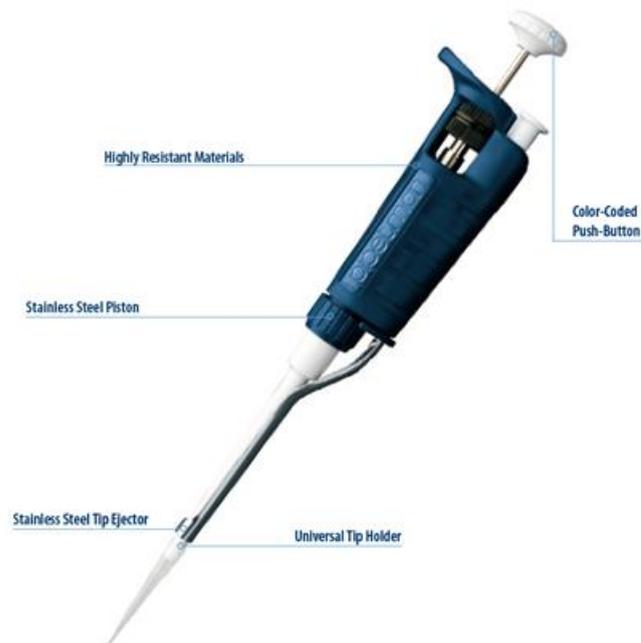


Figura 3. Micropipeta y partes que las componen. Fuente: catalogo Gilson "pipetman classic features".

- **Simulación microfluidica:** Los *C. elegans* se dosifican mediante pequeños volúmenes de control, el estudio de esto volúmenes son de vital importancia para clasificar con éxito a los especímenes. Es por esto por lo que surgió la necesidad de realizar cálculos mediante softwares especializados con los que poder predecir el comportamiento del medio en el que se encuentran los gusanos. A niveles microfluidicos los sistemas no se comportan de la misma manera que cuando están compuestos por órdenes más contundentes de fluido, tal y como se detalla en el tema correspondiente a este tema. Esto ha supuesto un reto en el diseño del robot, siendo una parte crítica en el desarrollo del TFM.
- **Diseño y fabricación de piezas:** para fijar y controlar la micropipeta ha sido necesario diseñar un soporte, así como otras piezas auxiliares. Estas piezas se desarrollaron mediante tecnología de impresión 3D para su implementación en el sistema robotizado. Otras partes con las que cuenta el robot se disponían ya en el laboratorio para su uso por lo que no fue necesario su diseño, como por ejemplo la estructura metálica:

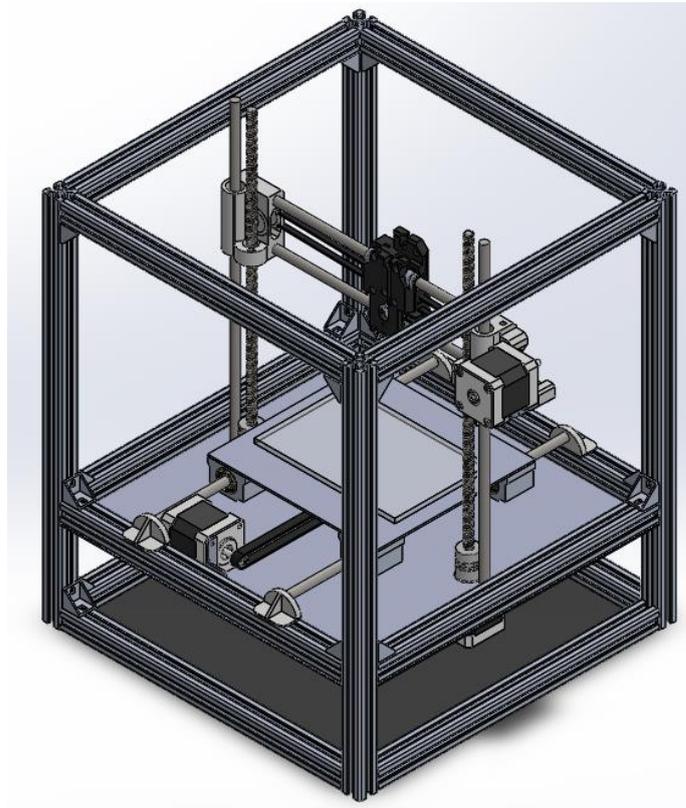


Figura 4. Sistema disponible en el laboratorio.

Aun así fue necesario realizar un ensamblaje y reconstruir en 3D el sistema, como se observa en la figura 4, para una correcta implantación de las piezas diseñadas. De la misma manera todas estas partes se han tenido en cuenta en la lista de materiales y en el presupuesto.

- **Evaluación de los *C. elegans*:** para poder monitorizar el proceso de pipeteado de gusanos es necesario dotar al sistema de una cámara con el suficiente zoom como para poder ver los *C. elegans* en todas sus fases de crecimiento.

Como se ha comentado en la introducción la esperanza de vida de estos especímenes son de aproximadamente de tres semanas, durante este lapso de tiempo pasan por distintas etapas de crecimiento hasta su etapa adulta (fig. 5).



Figura 5. Fases de crecimiento de los *C. elegans*.

Concretamente los tamaños que alcanzan los gusanos en cada etapa de su desarrollo son los siguientes:

- L1: 250 μm .
- L2: 360-380 μm .
- L3: 490-510 μm .
- L4: 620-650 μm .

Para realizar estas operaciones de monitorización se utilizará una cámara de raspberry pi con una lente especial con el suficiente alcance de ver a estos gusanos desde su etapa L1 hasta la adulta.

- **Experimentos:** finalmente para verificar que todas las fases del desarrollo del proyecto han sido ejecutadas correctamente se han realizado una serie de experimentos que prueban la funcionalidad del sistema.

CAPÍTULO 3. SIMULACIÓN MICROFLUÍDICA.

Como se indicó en capítulo 2, la manipulación de los *C. elegans* se realiza mediante volúmenes muy pequeños de fluidos, en este caso, se utiliza una solución salina denominada M9, utilizado en el cultivo y mantenimiento de cepas, con propiedades prácticamente idénticas a las del agua.

Es por ello que la simulación queda simplificada a la manipulación de pequeños volúmenes de control de agua donde los especímenes habitarán. La necesidad de esta simulación radica en que cuando se trabaja con sistemas microfluídicos, su comportamiento mecánico no es tan intuitivo como cuando se trabaja con volúmenes de mayores dimensiones.

En microfluidica existen parámetros que toman relevancia a niveles tan pequeños como es el ejemplo de la tensión superficial. Mientras que en sistemas macrofluídicos la tensión superficial apenas toma relevancia, en los sistemas que ocupan a este proyecto, suponen un valor crítico. Por el contrario las fuerzas gravitacionales disminuyen considerablemente su efecto.

Estos efectos se analizaron mediante una prueba en el laboratorio. Dicha prueba consistió en una primera toma de contacto con la micropipeta, con la cual se pipeteo un pequeño volumen de control para dosificarlo a una altura de 1 cm sobre la superficie. Esta prueba fue documentada gráficamente como se observa en la siguiente figura.

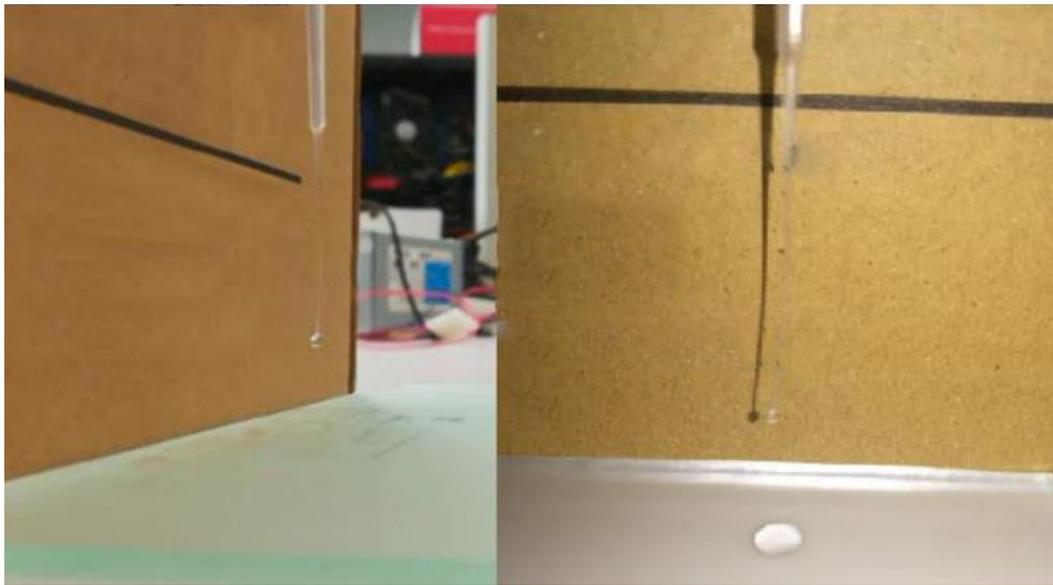


Figura 6. Observaciones de la tensión superficial en el sistema.

Una vez realizadas todas las observaciones pertinentes en la prueba, se llegó a la conclusión de los efectos de la gravedad no se revelaban hasta que la gota no formaba un volumen lo suficientemente grande como para que se desprendiera de la punta. Hasta que se manifestaban estos hechos la tensión superficial mantenía la gota pegada a la micropipeta. Son precisamente estos efectos los que requieren un estudio en profundidad para poder diseñar la técnica de dosificación más eficiente para el sistema robotizado.

Para realizar esta clase análisis de una forma exacta y eficaz es aconsejable el uso de herramientas de simulación multifísica como pueden ser COMSOL o ANSYS. Esta clase de programas de cálculo permiten al usuario la parametrización de sistemas mediante modelos de cálculos diferenciales complejos, estos cálculos se realizan mediante iteraciones que convergen a una solución final. Para el caso del campo de la microfluídica, proporcionan un motor de cálculo muy potente para resolver las ecuaciones de Navier-Stokes con unas condiciones de contorno que el usuario debe determinar para definir el sistema. Sin la ayuda de estos simuladores realizar esta clase de cálculos se haría demasiado costoso, casi irrealizable.

3.1 Tensión superficial

Hasta ahora en el desarrollo de este capítulo se ha hecho hincapié en que en sistemas microfluídicos hay que prestar especial atención a la tensión superficial debido a que es el parámetro más importante a tener en cuenta, tanto es así que puede llegar a condicionar qué técnica se debe utilizar en el robot para dosificar y clasificar a los *C. elegans*.

Se define como la cantidad de energía necesaria para que un sistema fluídico aumente su superficie por unidad de área. Un líquido, que no está influido por fuerzas externas, como la gravedad, siempre intentará minimizar su área de superficie para mantener un equilibrio con sus fuerzas internas (como por ejemplo las fuerzas de Van der Waals). Por esta razón cuando se forma una gota de agua lo hace con una forma esférica. Este es un claro ejemplo de por qué la tensión superficial es tan influyente en los microfluidos, define la forma que adoptarán los volúmenes en este sistema.

Este fenómeno se debe a enlaces fuertes en la superficie de los fluidos (fig.7), como en todas clases de enlaces la temperatura juega un papel fundamental siendo en este caso la tensión superficial inversamente proporcional a la temperatura a la que se encuentre el líquido, ver figura 8. Y es en la temperatura donde se encuentra otra notable diferencia entre los sistemas macrofluídicos y microfluídicos, concretamente en el mecanismo de transferencia. En pequeños volúmenes es el mecanismo de difusión el que predomina sobre la convección, fenómeno que en sistemas macros es despreciable. El mecanismo de difusión se debe a una agitación térmica de las moléculas del fluido, en este caso agua, produciéndose una cantidad elevada de colisiones entre ellas elevando la temperatura del sistema, este fenómeno de colisiones se denomina movimiento browniano.

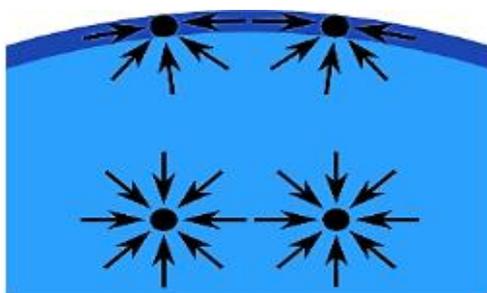


Figura 7. Comportamiento de la tensión superficial. Fuente: <https://www.euston96.com/tension-superficial/>

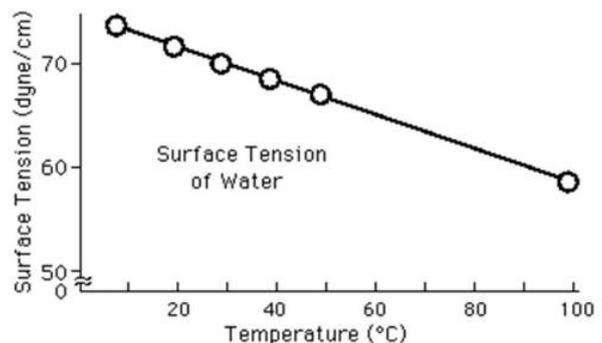


Figura 8. Temperatura vs tensión superficial. Fuente: Anselmo Vasquez "<https://slideplayer.es/slide/3276524/>"

Es por ello que se puede deducir que si se controla en el fluido la temperatura, también estará controlada la tensión superficial. En este caso no es posible hacer cambios en el la temperatura del fluido debido a que los *C. elegans* deben mantenerse a una temperatura ambiente entre 20°C y 25°C.

La tensión superficial se puede calcular por la siguiente expresión:

$$F_{ts} = \gamma * lc \text{ (ec. 1)}$$

De la ecuación 1 se definen los parámetros que la componen como:

- γ , es la energía por unidad de área y se mide en N/m. Para el valor del agua a temperatura ambiente (25°C) se adopta un valor de 71,99 mN/m (medida en el aire).

- lc , es la longitud característica y depende de la forma de volumen de control, se medirá en metros.

Cuando una gota cae a una superficie, como se quiere simular, y esta se humedece se produce un efecto de humectación ocasionando dos fuerzas:

-**Fuerzas adhesivas:** en las interfaces del sistema.

-**Fuerzas de cohesivas:** en el interior del fluido.

Para establecer si la gota humecta en una superficie basta con observar el ángulo que forma con la superficie a la que se adhiere si:

- $\theta < 90^\circ$ el líquido humedece la superficie, en el caso del agua se dice que la superficie es hidrófila (fig. 9).

- $\theta > 90^\circ$ el líquido no humedece la superficie, en el caso del agua se dice que la superficie es hidrófoba.

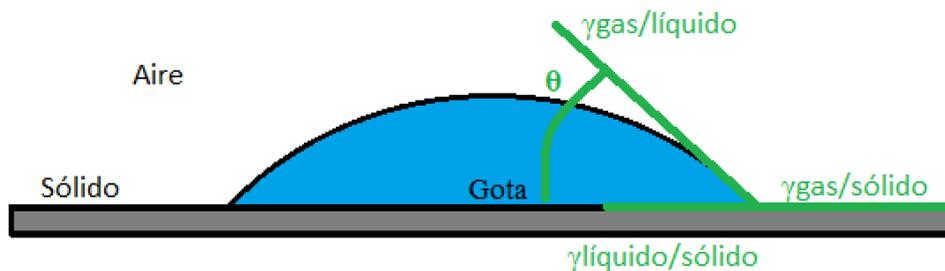


Figura 9. Interfaces de una gota hidrófila.

Este fenómeno se puede expresar matemáticamente mediante la ecuación 2 que se expone a continuación:

$$\gamma_{gas/sólido} = \gamma_{líquido/sólido} + \cos(\theta) * \gamma_{\frac{gas}{líquido}} \text{ (ec. 2)}$$

La gota mantendrá su forma y no se expandirá siempre que exista un equilibrio de presiones en el interior y exterior de la gota. Toda esta información es valiosa para realizar la simulación ya que define como se va comportar el volumen de control, en este caso la gota, en la superficie donde se deposita.

De la misma manera hay que predecir cómo se comporta el volumen de control en el interior de la punta del micropipeta. Estas puntas tienen un diámetro muy pequeño, de tan solo 0,25 mm por lo que se puede interpretar como un microcanal o capilar. Se puede realizar un esquema del modelo del capilar como se observa en la figura 10.

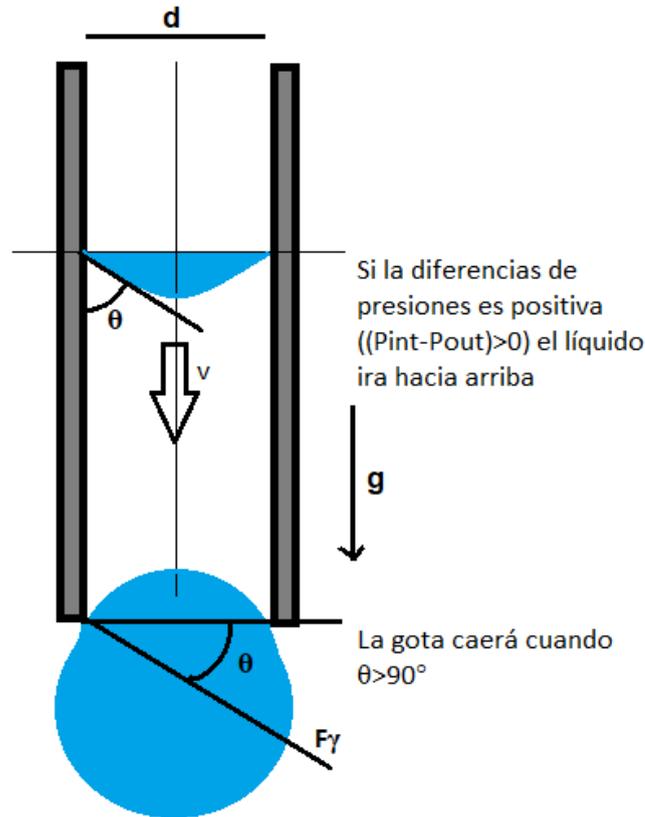


Figura 10. Proceso capilar del sistema de pipeteo.

Este modelo explica como cae la gota tras pasar por un microcanal, cuando se produce una diferencia de presiones favorable al movimiento del fluido este se mueve a través del capilar formando con las paredes de este un ángulo θ concreto, dependiendo de qué tipo de material este hecho el microcanal. Una vez que el volumen de control llega a la salida irá aumentando su volumen cada vez más hasta que el ángulo θ forme con la salida del capilar un ángulo de 90° , es a partir de aquí cuando la gota se desprenderá y caerá a la superficie.

Este debe ser el fenómeno que se observe en la simulación tras parametrizar todos estos datos correctamente. Tal y como se ha observado en el experimento de laboratorio previo.

Tras definir como se debe comportar el sistema desde el punto de vista de la mecánica de fluidos, se desarrolló la simulación mediante el programa COMSOL. Se escogió este software porque permite de una forma muy intuitiva elegir, entre varios modelos de cálculo, cual es el que mejor se ajusta al estudio que se quiere llevar a cabo. También están a disposición de los usuarios varios ejemplos en su página web que ayudan al usuario a comprender el funcionamiento del programa con casos concretos en el campo de la microfluídica.

A continuación se detallará como se ha realizado la simulación con el software COMSOL, así como que conclusiones se han podido obtener de esta.

3.2 Simulación en COMSOL:

Una vez se ejecuta el programa se debe definir el sistema que se desea simular, empezando por la selección de la dimensión del espacio (fig. 11):



Figura 11. Dimensión del espacio de simulación.

Como el sistema que se quiere simular es simétrico, debido a la simetría de la punta de micropipeta, y se puede simplificar a un modelo 2D, ya que se puede ver los fenómenos que transcurren en el sistema de una forma transversal a este, se escoge la opción de “2D axisimétrico”.

Una vez que ya se ha definido la dimensión del espacio, se debe definir qué física se adapta más al modelo de cálculo, entre todas las opciones se ha escogido (fig. 12):

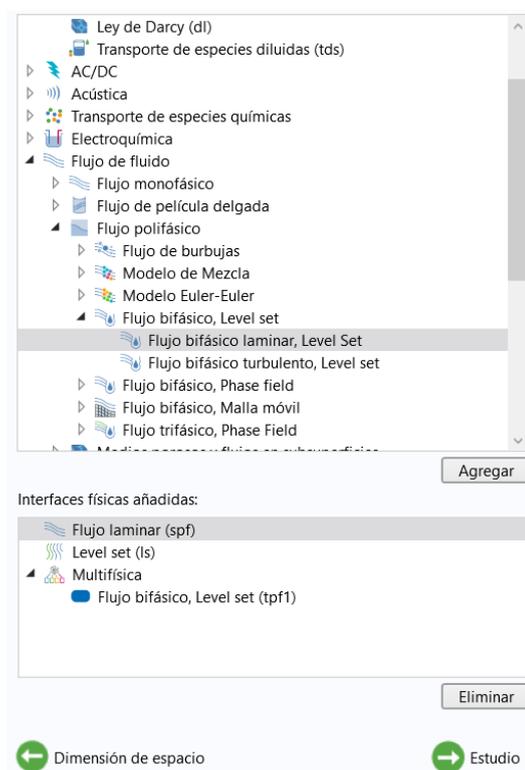


Figura 12. Selección física.

El modelo “Flujo bifásico laminar, Level Set” se adapta a la simulación que se requiere, ya que rastrea la interfaz entre dos fluidos inmiscibles como son el agua y el aire. Se supone el flujo laminar porque el número de Reynolds es bajo, inferior a 2000, debido a las bajas velocidades que se dan en el sistema. La interfaz resuelve las ecuaciones de Navier-Stokes para la conservación del momento y una ecuación de continuidad.

Antes de comenzar a parametrizar el sistema hay que definir un último modelo de cálculo para la simulación (fig. 13):

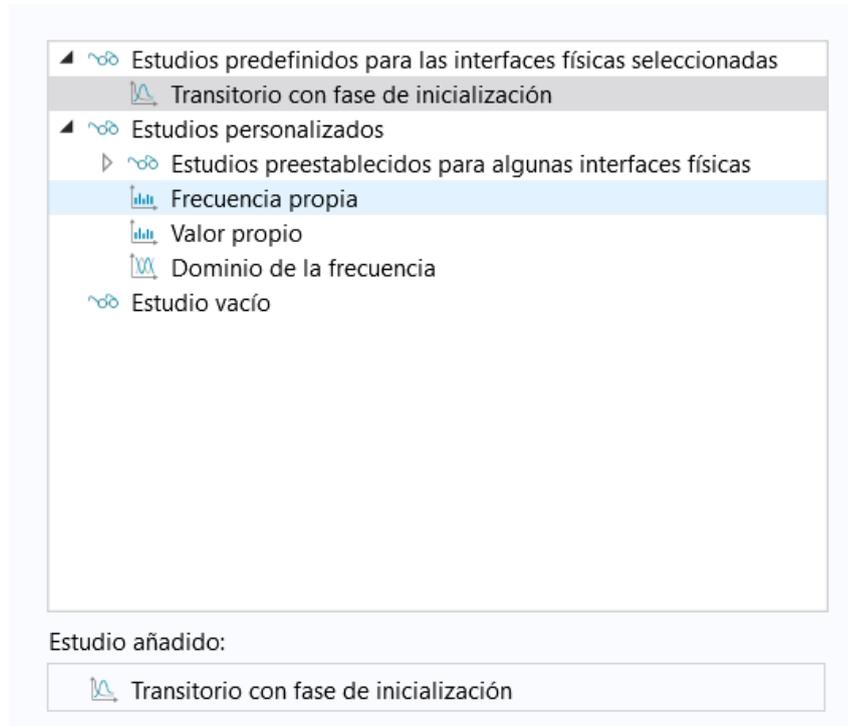


Figura 13. Modelo de estudio de la simulación.

El estudio transitorio con inicialización de fase se utiliza para simulaciones de flujo dependientes del tiempo que requieren el cálculo de la distancia a la interfaz fluido-fluido.

Tras la configuración inicial, se puede realizar la parametrización del sistema que se quiere simular, en la cual hay que definir los siguientes puntos:

3.2.1 Geometría: la geometría define la punta de la pipeta así como el entorno que define el volumen de control de la simulación. Tal y como se ha modelizado la dimensión del espacio se requiere dibujar solo la mitad de la geometría, la cual se puede ver en la figura 14.

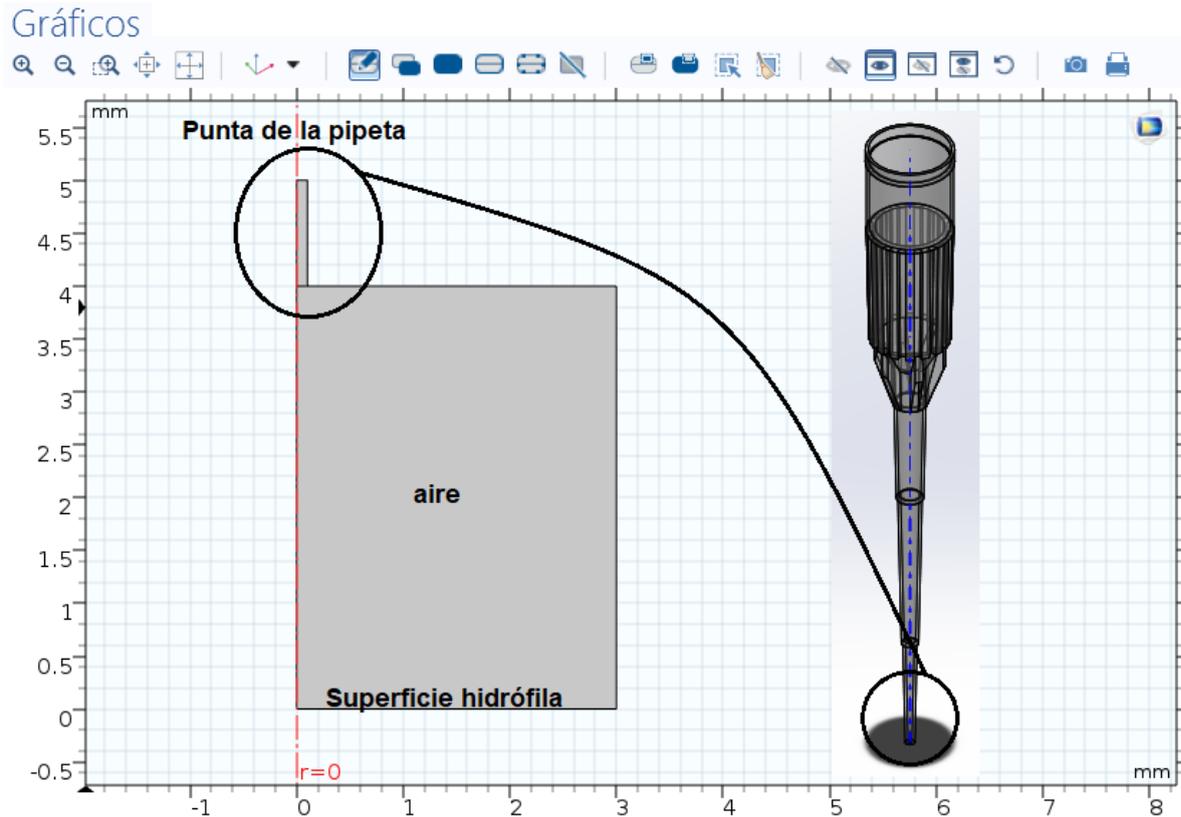


Figura 14. Geometría de la simulación.

El diámetro de la punta de la micropipeta mide 0.25 mm. Con este dato podemos calcular que volumen de agua se maneja en la simulación, dependiendo de qué altura de líquido parametricemos. En nuestro caso, se define una altura de líquido de 1 mm el volumen de la gota será de:

$$V = \pi * r^2 * h = \pi * 0.25^2 * 1 = 0.2 \text{ mm}^3 = 0.2 \mu\text{l} \text{ (ec. 3)}$$

Este volumen que de antemano puede parecer pequeño, realmente, para las necesidades del proyecto no lo es. Ya que en esta capacidad pueden coexistir varios ejemplares de *C. elegans* en todas sus etapas de crecimiento desde L1 hasta adultos.

Se ha colocado la micropipeta a 4 mm de distancia de la superficie hidrófila para que la gota no sufra un impacto demasiado elevado al colisionar y el fluido se disemine y con él los gusanos.

3.2.2 Materiales: Es en este apartado donde se define que fluido forma cada sección en el volumen, a priori, de control. Los componentes fluídicos, que definen el sistema son el aire y el agua (en sustitución del M9), ver figura 15. Los materiales sólidos como la superficie donde cae la gota o las paredes de la punta de la pipeta no hace falta definirlos ya que se detallarán más adelante en otro punto.

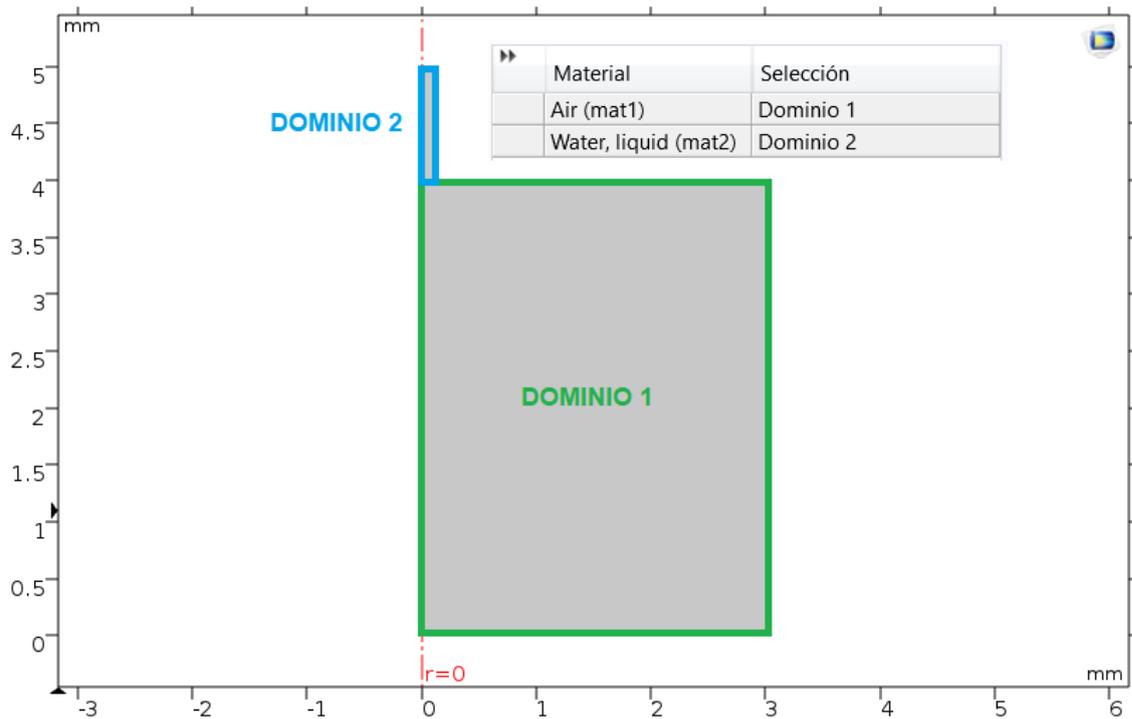


Figura 15. Definición de los materiales de simulación.

3.2.3 Modelos de cálculo: este es el paso más importante en la simulación y se debe asegurar que todos los parámetros son correctos para un correcto cálculo. Como se ha definido en la física se utiliza el modelo de “flujo bifásico laminar, level set” donde se trabaja con las ecuaciones de Navier-Stokes. A la hora de parametrizar esta física se hará en tres partes diferenciadas:

3.2.3.1 Flujo laminar: en microfluidica los flujos suelen ser laminares ya que los términos viscosos dominan sobre los inerciales y hace que el número de Reynolds sea pequeño. Para modelizar el flujo laminar ha sido necesario definir los parámetros de la siguiente tabla

VARIABLES DE FLUJO LAMINAR	
Temperatura del sistema	293,15 K (temperatura ambiente)
Velocidad inicial	0 m/s
Presión inicial	0 Pa, compensar presión hidrostática
Gravedad	9,81 m/s ²
Presión de entrada	75 kPa
Presión de salida	0 kPa

Tabla 1. Variables de flujo laminar.

3.2.3.2 Level set: este modelo usa una ecuación diferencial para parametrizar cómo se comporta las interfaces del sistema. Para ello se utilizan las siguientes variables:

VARIABLES LEVEL SET	
Fluido 1 ($\phi=0$)	Aire
Fluido 2 ($\phi=1$)	Agua

Tabla 2. Variables level set.

Basta con definir de nuevo los dominios de cada fluido, la interfaz inicial, las entradas y salidas del sistema (ver figura 16) para que COMSOL resuelva la siguiente ecuación diferencial:

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} + u \cdot \nabla \phi = \gamma \nabla \cdot \left(\epsilon_{ls} \nabla \phi - \phi(1 - \phi) \frac{\nabla \phi}{|\nabla \phi|} \right) \quad (ec. 4)$$

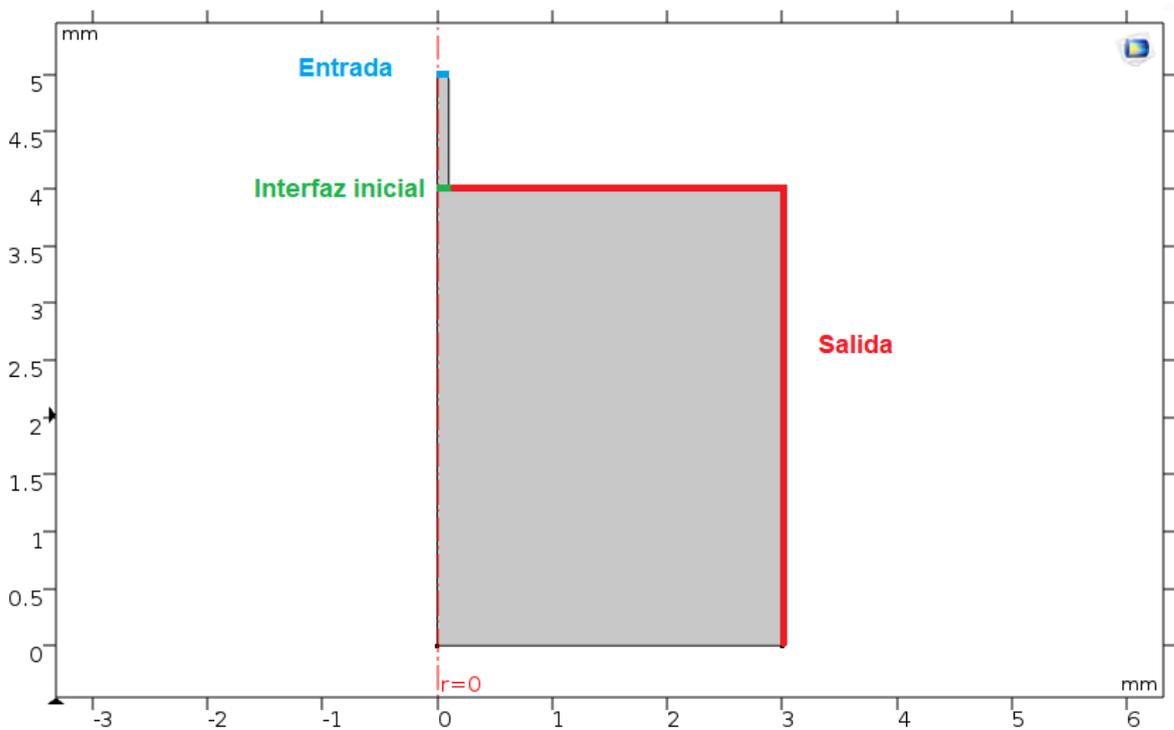


Figura 16. Variables level set.

3.2.3.3 Multifísica: en esta pestaña se marcan que superficies son las paredes humedecidas en las que existe una adhesión con el fluido/sólido (fig. 17). De esta manera el software simula como se forma la gota en ambas zonas:

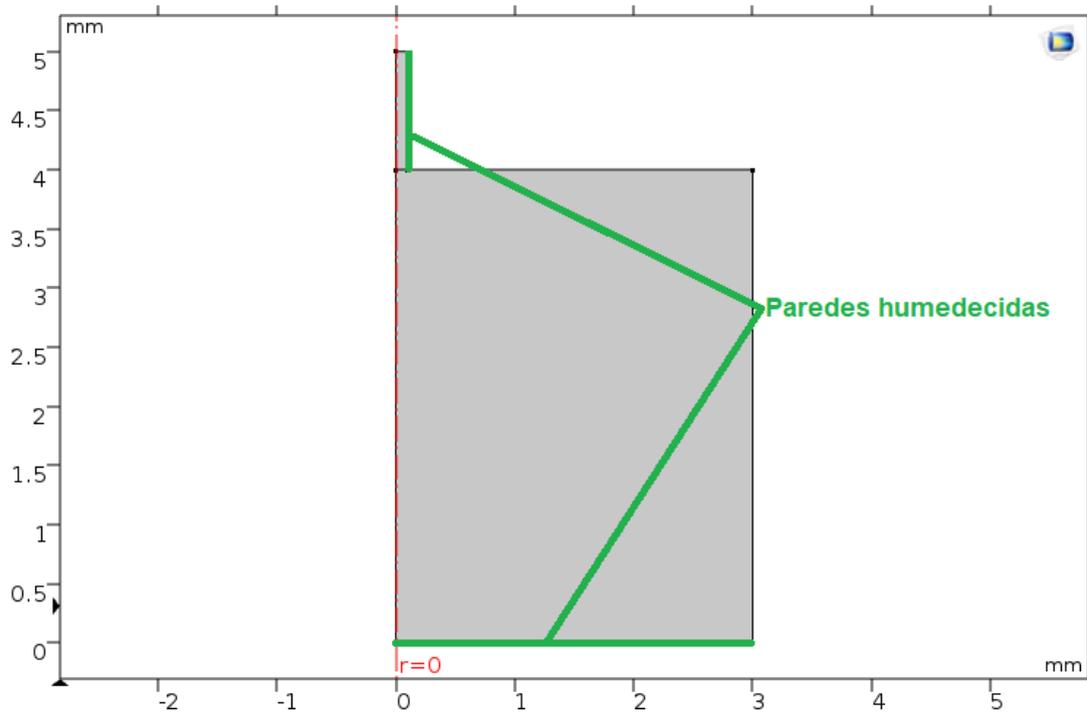


Figura 17. Paredes humedecidas del sistema.

3.2.4 Mallado: como el motor de cálculo está basado en los sistemas de cálculo de fluido dinámico (CFD) y cálculo de volúmenes finitos se debe realizar un mallado de nuestro sistema de control. De este mallado van a depender el tiempo de computación y la exactitud del sistema. Básicamente este método trata de discretizar el sistema en pequeñas formas geométricas simples, en este caso triángulos, para que en cada uno de estos elementos se calcule los valores correspondientes a por ejemplo la presión del sistema. Se tiene que llegar a un valor de compromiso entre el tiempo de cómputo y la exactitud por lo que se elige un mallado medio normal (fig. 18).

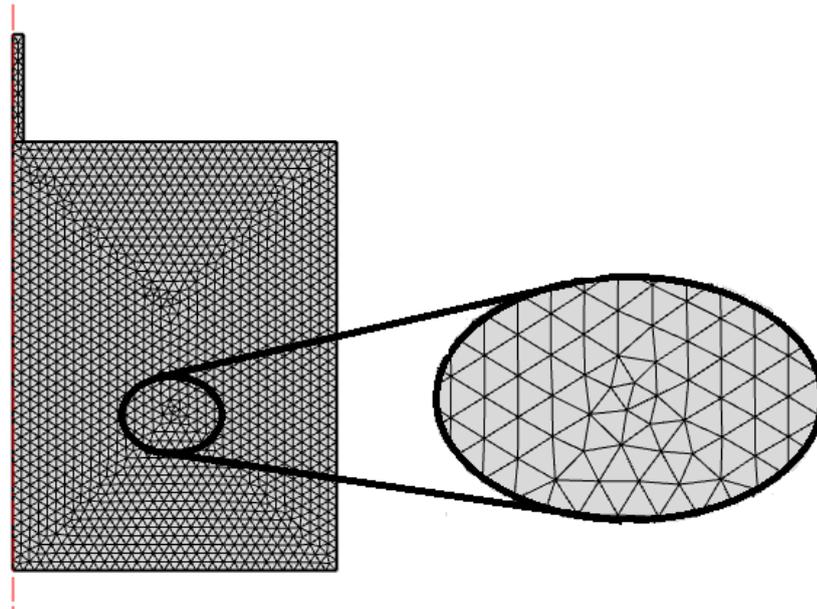


Figura 18. Mallado del sistema.

3.2.5 Ajustes temporales: antes de iniciar el cálculo se debe realizar un último ajuste en los parámetros (fig.19):

Etiqueta: 

▼ Configuración del estudio

Unidad del tiempo:

Tiempos: s 

Tolerancia:

▸ Resultados mientras resuelve

▼ Selección de físicas y variables

Modify model configuration for study step

»»	Interfaz física	Resuelve para	Discretización
	Flujo laminar	<input checked="" type="checkbox"/>	Ajustes de la física ▼
	Level set	<input checked="" type="checkbox"/>	Ajustes de la física ▼

»»	Acoplamientos Multifísicos	Resuelve para
	Flujo bifásico, Level set 1 (tpf1)	<input checked="" type="checkbox"/>
	Pared humedecida 1 (ww1)	<input checked="" type="checkbox"/>
	Pared humedecida 2 (ww2)	<input checked="" type="checkbox"/>

Figura 19. Ajustes temporales en la simulación.

De esta manera lo que se ha definido el tiempo de simulación del sistema, tras realizar varias pruebas se llegó a la conclusión que lo mejor y más eficiente es parametrizar este tiempo entre 0 y 0,15 segundos, en 240 intervalos. De esta manera no se comprometía demasiado el tiempo de cómputo, ya que es directamente proporcional al tiempo de simulación.

3.2.6 Resultados de la simulación: ya parametrizadas todas las variables de la simulación, se puede comenzar el cálculo que proporcionará el resultado de diferentes magnitudes físicas. Todos los resultados se mostrarán hasta el momento en el que la gota impacta en la superficie y se empieza a mostrar estable (0,0053125s). Al no haber precisado un mallado excesivamente fino no se requirieron demasiadas iteraciones para resolver el sistema (fig.20):

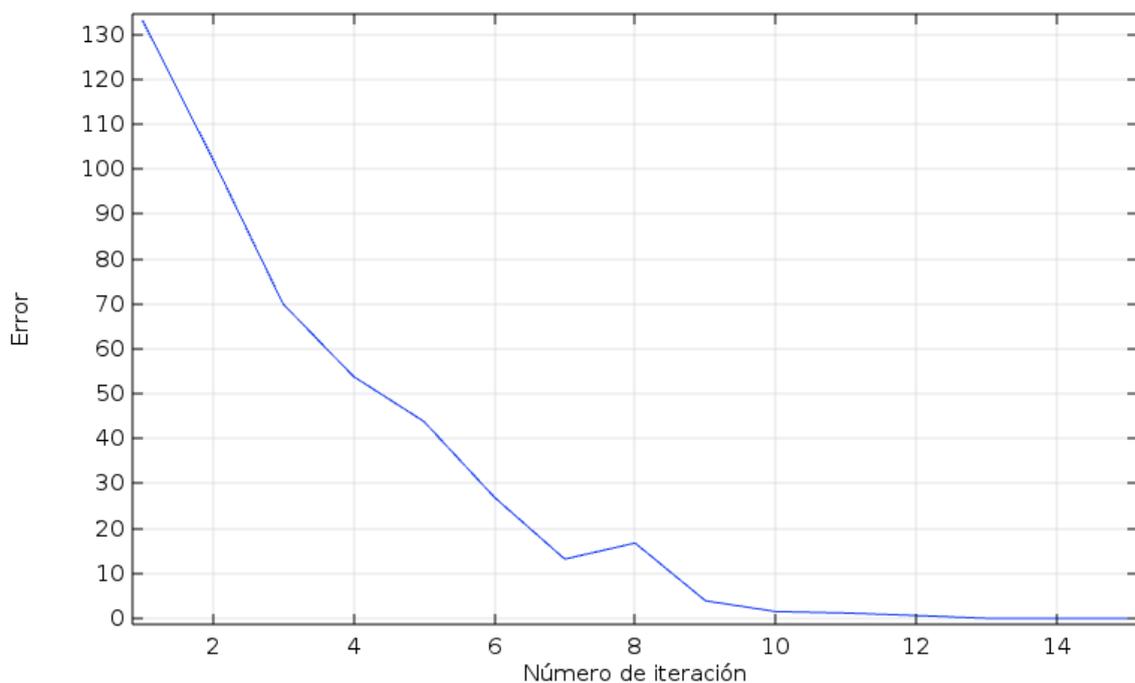


Figura 20. Iteraciones realizadas en el cálculo de la simulación.

En total el tiempo de cálculo fueron de 21 minutos y 12 segundos, tras los cuales ya se podían analizar los valores de la fracción volumétrica, la presión y la velocidad.

3.2.6.1 Fracción volumétrica del fluido: es este parámetro con el que se puede observar cómo se forma la gota, tal y como se podía predecir o como se podía ver en la figura 6. Por ello las figuras 21 y 22 son relevantes en los resultados:

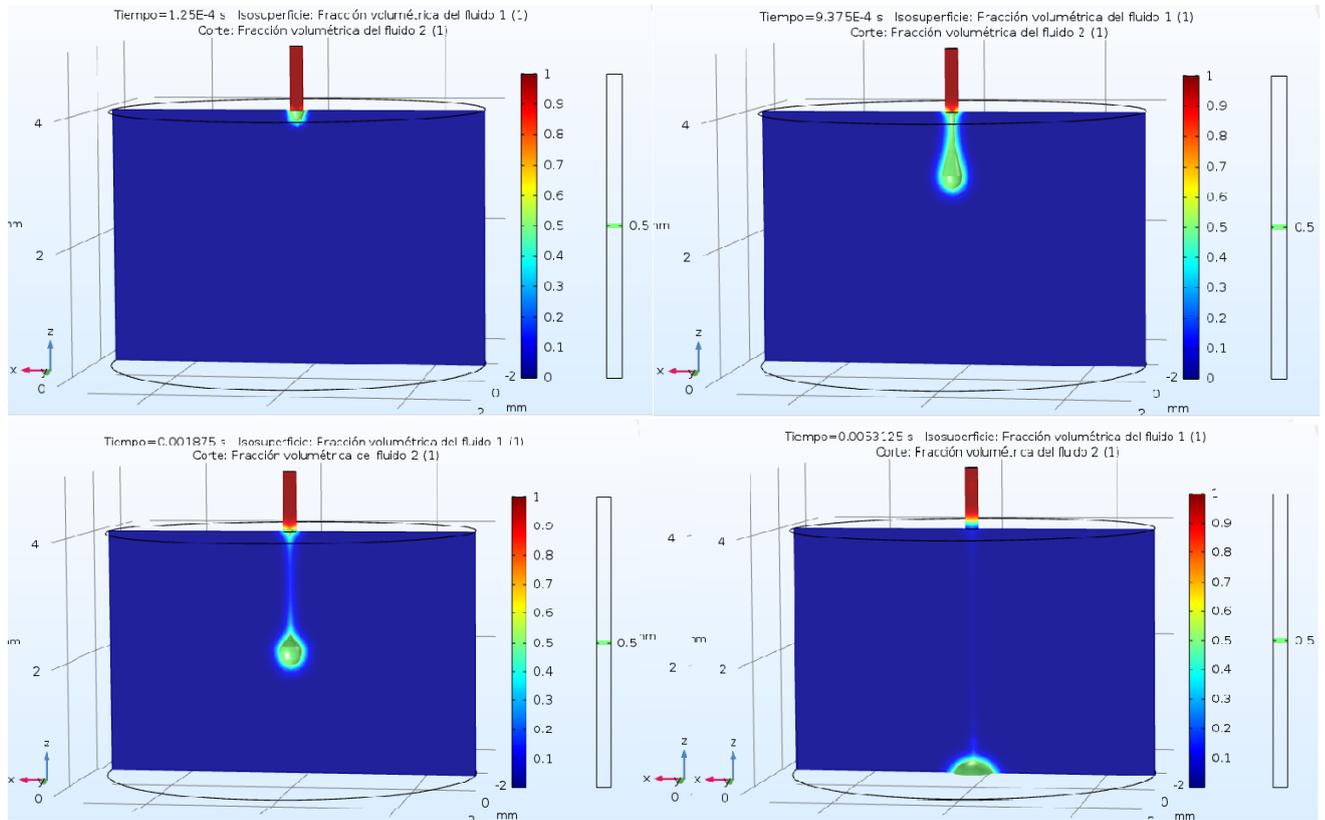


Figura 21. Fracción volumétrica del fluido 3D.

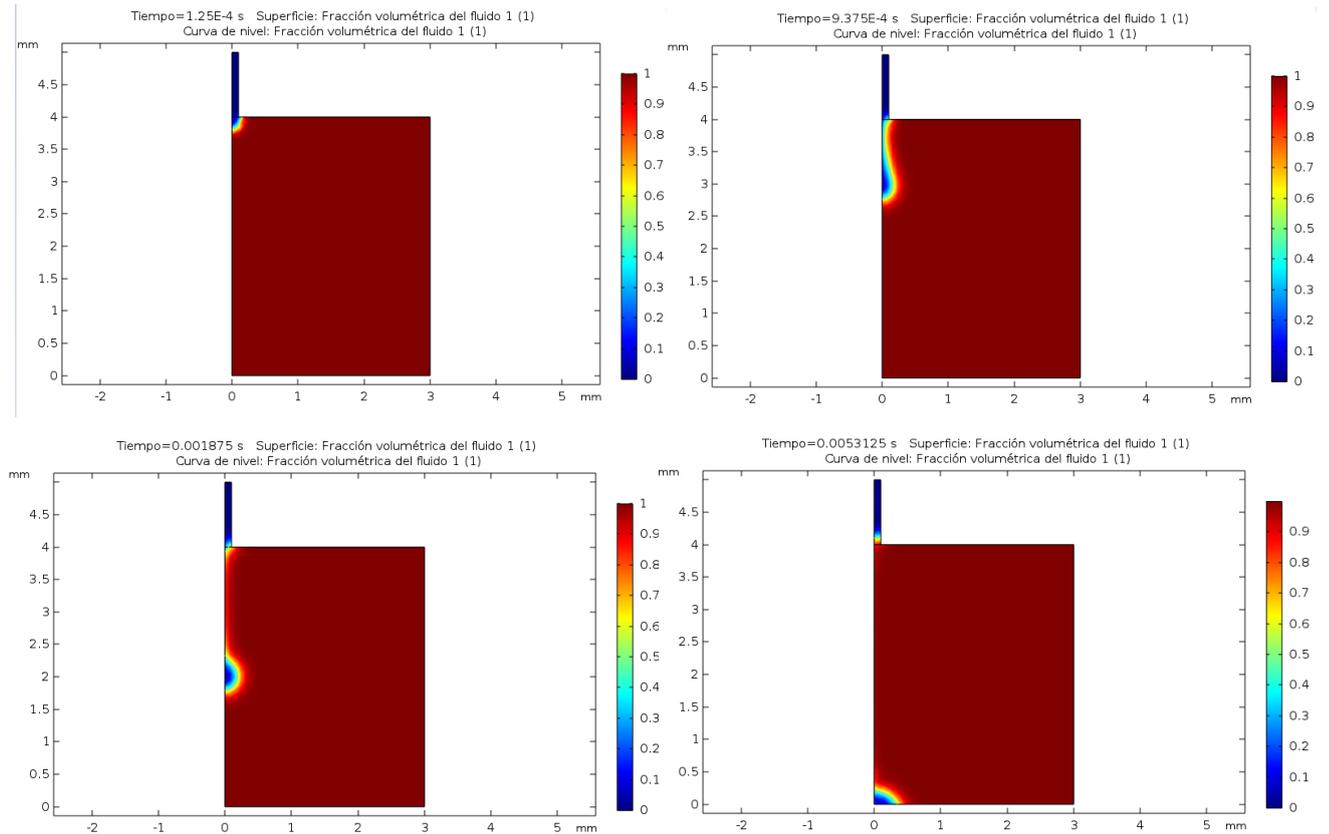


Figura 22. Fracción volumétrica del fluido 2D.

Es debido a la tensión superficial, tal y como se ha explicado al comienzo del capítulo, por la que se forma la gota y cae al formar un ángulo de 90° . Esto demuestra el planteamiento teórico expuesto así como la veracidad de la simulación.

3.2.6.2 Presión: simulando los valores de presión también se puede apreciar la formación de la gota, y como se mantiene su valor en el interior respecto a la presión externa. En los mismos resultados (fig.23) se puede apreciar cómo se marcan los vectores de velocidad definiendo la dirección en la que cae la gota.

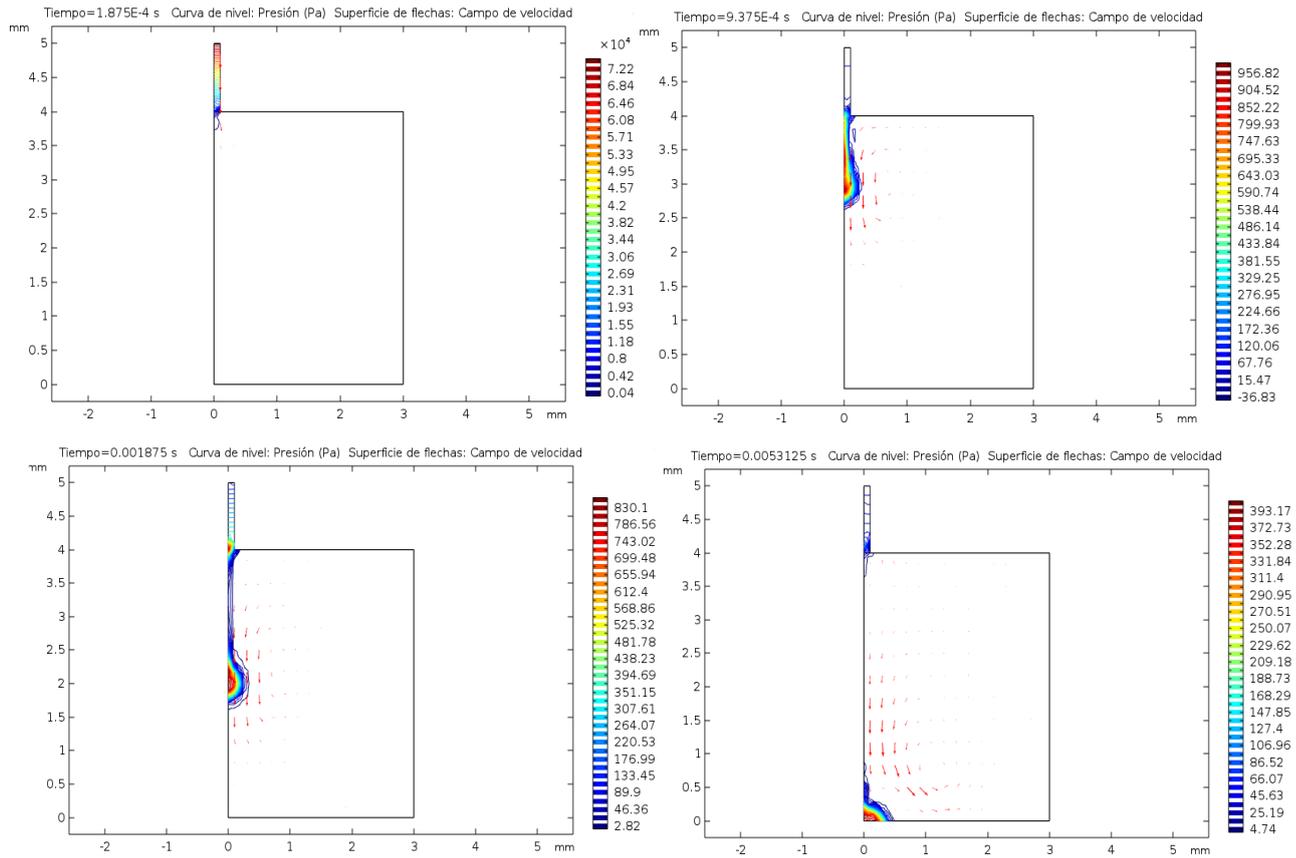


Figura 23. Presión en la gota.

3.2.6.3 Velocidad: con la velocidad de la gota nuevamente se puede intuir la forma de esta. Y se puede comprobar que la velocidad no es muy elevada en ningún momento, con lo que se justifica y se comprueba que el régimen es laminar (fig.24).

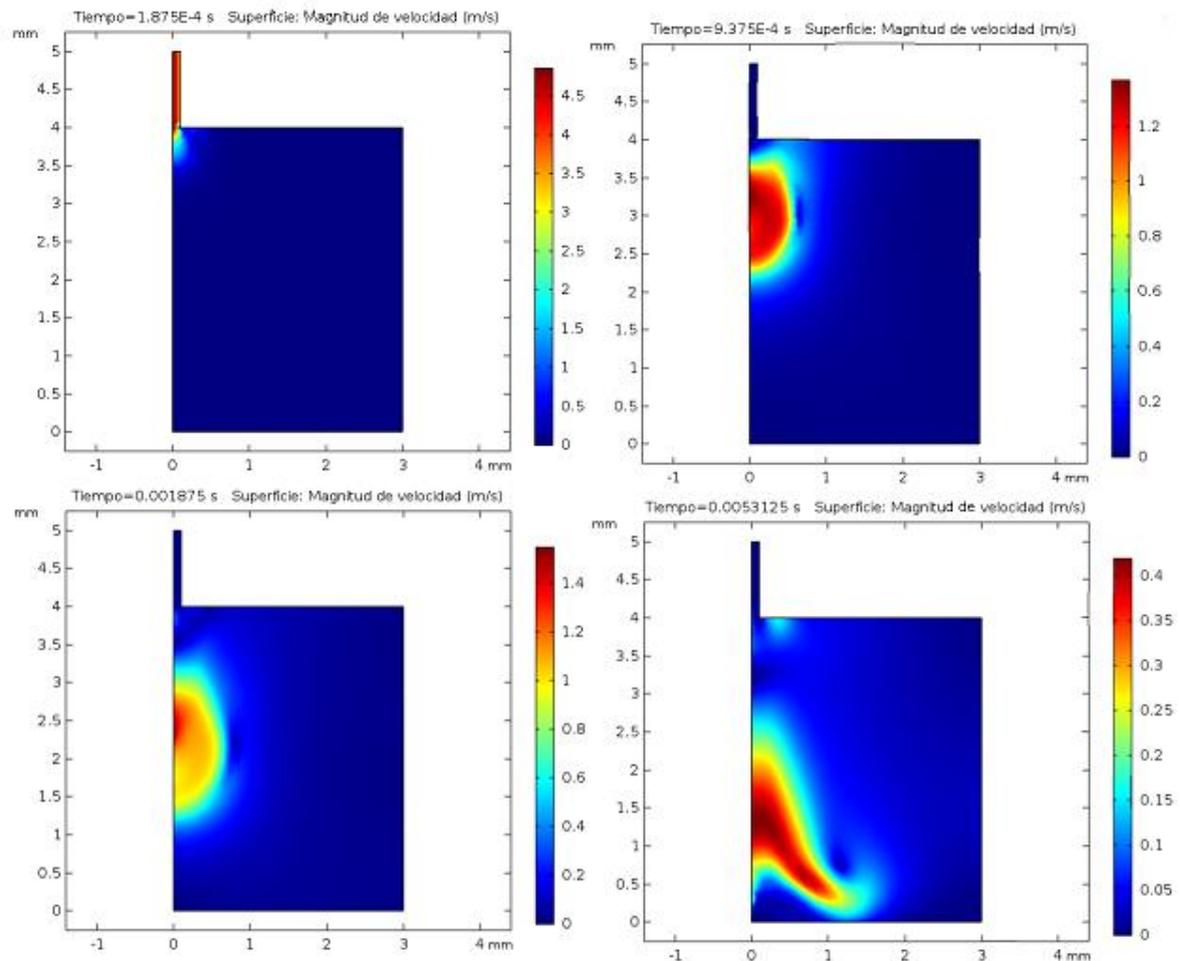


Figura 24. Velocidad en la gota.

Una vez analizados los resultados de la simulación se podría concluir, al menos de forma teórica, que aplicando presiones considerables se pueden utilizar gotas para dividir el volumen de control que existe en la punta de la micropipeta. No obstante tras realizar algunos experimentos de verificación del resultado de la simulación surgieron los siguientes problemas:

- No se llega a controlar bien el número de *C. elegans* que tenemos en una gota, ya que depende de la fase de crecimiento en el que estén y de la densidad de población que haya en el medio.
- La punta de la pipeta es extremadamente fina y está siempre expuesta a vibraciones que diseminan una gota por toda la superficie.
- Hay que aplicar presiones altas para evacuar todo el volumen de control alojado dentro de la punta de la micropipeta, debido a la alta tensión de superficie.

Analizando estas problemáticas se estudió una técnica alternativa para llevar a cabo la dosificación. Aprovechando la flexibilidad de la punta de la pipeta se puede ir arrastrando esta por la superficie rompiendo la tensión superficial fácilmente. Por otra parte, al tener la punta en contacto con otro sólido no se presentan los fenómenos de vibraciones que se tenían con la técnica anterior. Por último, también es más fácil de controlar la población de gusanos que se dejan sobre la superficie, ya que será más fácil de controlar el volumen que dejamos sobre la superficie.

Esta nueva forma de dosificar el microfluido no ha sido simulada como la técnica anterior debido a que no es posible realizar una simulación tan compleja con el software, es por ello que directamente se realizaron pruebas empíricas como muestra la figura 25. Estas pruebas concluyeron con éxito, obteniendo de esta manera la forma final de dosificar los *C. elegans*.

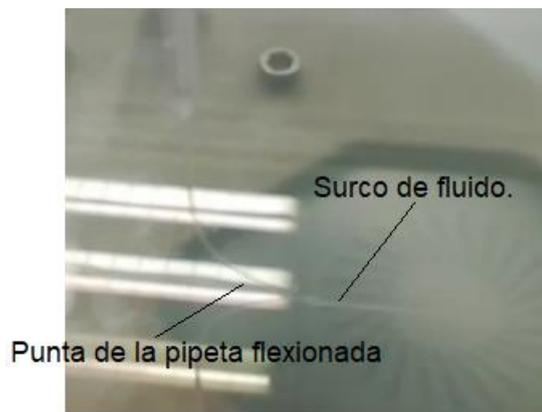


Figura 25. Método final para dejar el fluido sobre la placa.

CAPÍTULO 4. DISEÑO MECÁNICO DEL SISTEMA

El diseño mecánico del sistema se basa en el planteamiento de un robot cartesiano debido a los requerimientos de la micropipeta de moverse por un espacio tridimensional. Es por ello que el robot debe capacitar a la herramienta de dosificación de movimientos en los ejes x, y, z.

Toda la parte del diseño mecánico se realiza mediante el software Solidworks, esta herramienta está muy extendida en el ámbito de la ingeniería y permite realizar otras funcionalidades como estudios de movimientos, etc. Se ha escogido este programa entre otros porque se posee licencia y el alumno tiene un conocimiento profundo sobre el manejo del software.

Ya se adelantó en el capítulo 2 que se reutilizaron montajes que estaban disponibles en el laboratorio. Pero antes de acoplar el nuevo sistema a dichas estructuras se realizó un diseño previo original desde cero del robot. Este planteamiento previo se realizó basándose en las necesidades marcadas por el Hospital Universitario y Politécnico de la Fe (fig.26).

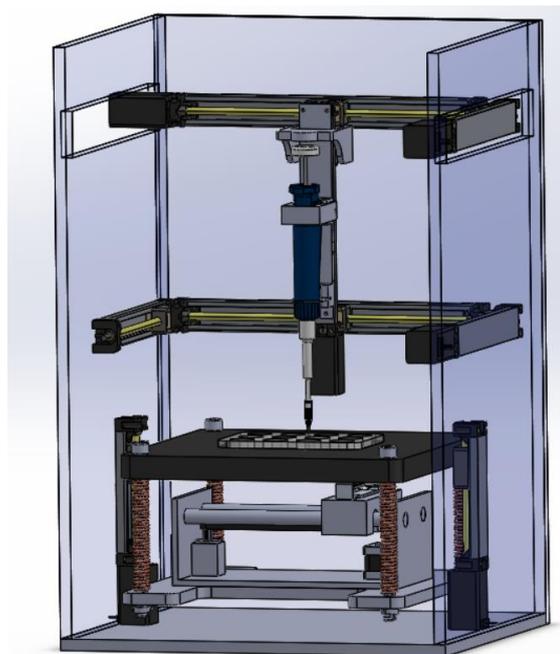


Figura 26. Diseño previo del sistema robotizado.

Se puede observar que con este sistema previo se necesitarían como mínimo 7 motores para mover el mecanismo en el espacio y realizar la dosificación:

- Eje x: un motor.
- Eje y: un motor.
- Eje z: dos motores.
- Émbolo de la micropipeta: un motor.
- Movimiento de la cámara: dos motores.

Esto hace del robot un sistema poco eficiente en consumo y se complicaría la dinámica a la hora de coordinar los movimientos de todos los motores implicados. Este fue el primer inconveniente que se encontró en el diseño previo.

Este planteamiento se realizó antes de determinar que la dosificación se realizaría mediante gotas en multipocillos (matriz de pocillos utilizados como tubos de ensayos), por lo que el diseño contenía una cama adaptada a estas placas. Por no ser superficies lisas era necesario realizar la evaluación de la dosificación de los *C. elegans* por la parte posterior, complicando la visión de los gusanos.

Esta cámara, al igual que el diseño definitivo, estaría controlada mediante una raspberry pi. Este sistema de visión al no ser solidario a la punta de la micropipeta tendría que ser dotado de movimiento para que fuera evaluando todos los pocillos (fig.27):

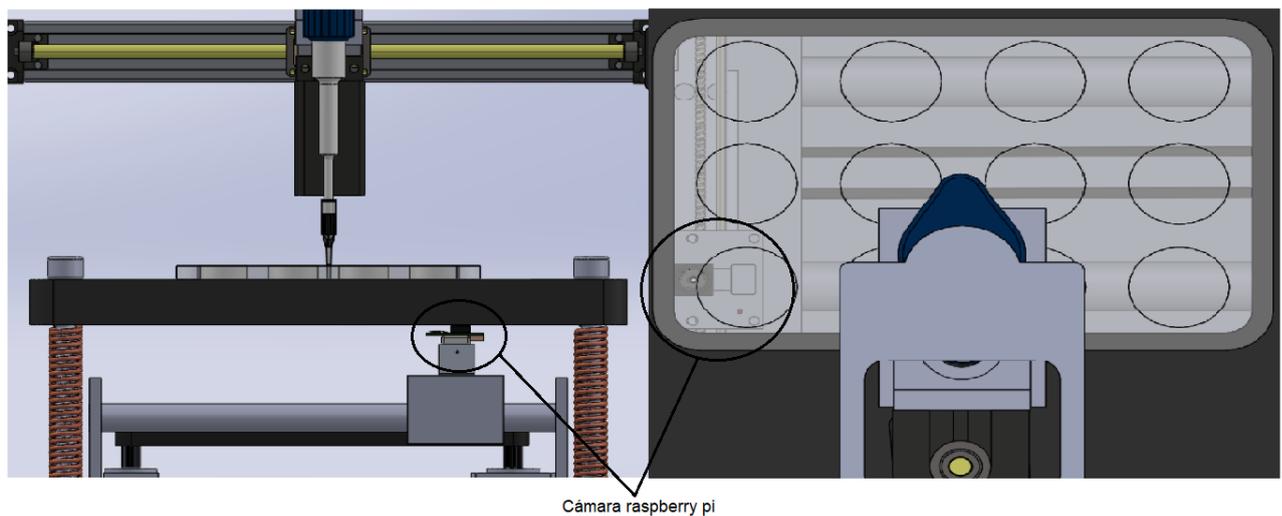


Figura 27. Cámara para monitorización de los *C. elegans*.

En cuanto a la acción de empuje del émbolo se utiliza un motor con un carro lineal. Sobre este carro hay una pieza que presiona sobre el cilindro de la micropipeta. En este punto del diseño se inspecciona otro posible problema, y es que debido a la forma ovalada del botón del émbolo, presionarlo se puede complicar si se diseña una pieza plana ya que solo se tendría un punto de contacto para ejercer toda la fuerza. Para comprobar cómo se comportaría este movimiento se realizó mediante la herramienta de diseño de Solidworks un estudio de movimiento, como se ve en la figura 28.

Tras analizar el contacto que realiza la pieza de empuje sobre el émbolo de la micropipeta se llega a la conclusión de que sí que existe un desplazamiento en el sistema de dosificación siempre que la micropipeta esté perfectamente alineada con el sistema carril-motor que ejecuta el desplazamiento. Esto puede acarrear problemas si se produce algún desajuste por lo que se llega a la conclusión final que esta pieza no es eficiente.

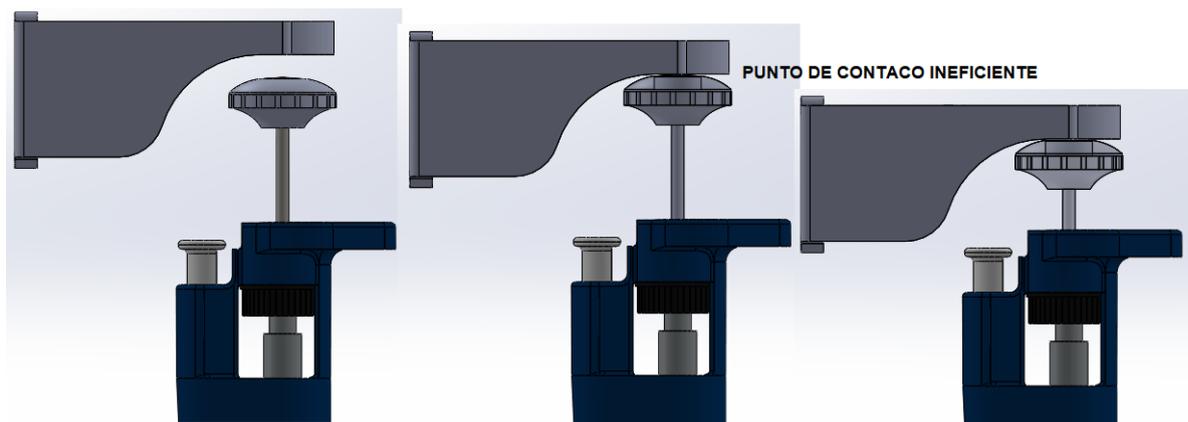


Figura 28. Estudio de contacto para el émbolo de la micropipeta.

Tras haber concluido que el punto de contacto es ineficiente se realizó un rediseño de la pieza en cuestión para que se adapte mejor al cilindro de la micropipeta consiguiendo de esta manera una mejor área de contacto, evitando así posibles problemas en el desplazamiento del émbolo. Esta pieza se puede ver en la siguiente figura:

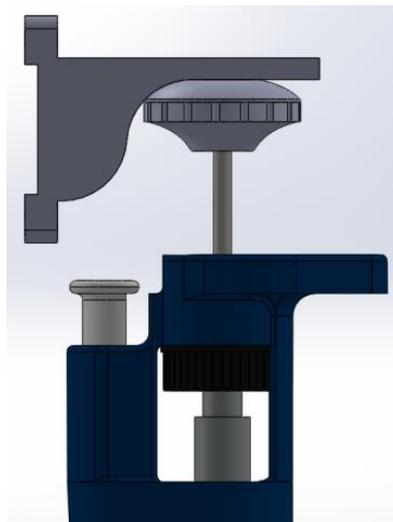


Figura 29. Solución para mejorar el contacto con émbolo.

Una vez fue realizado un diseño previo y analizados todos los posibles problemas que este podía tener se pasó a utilizar partes de otro sistema que se tenía a disposición en las instalaciones del instituto de automática e informática industrial. Con este diseño final se pasaban a utilizar la mitad de motores y permitía debido a la técnica final de dosificación que la cámara fuera solidaria a la micropipeta, en la figura 30 se presenta el montaje definitivo del robot cartesiano

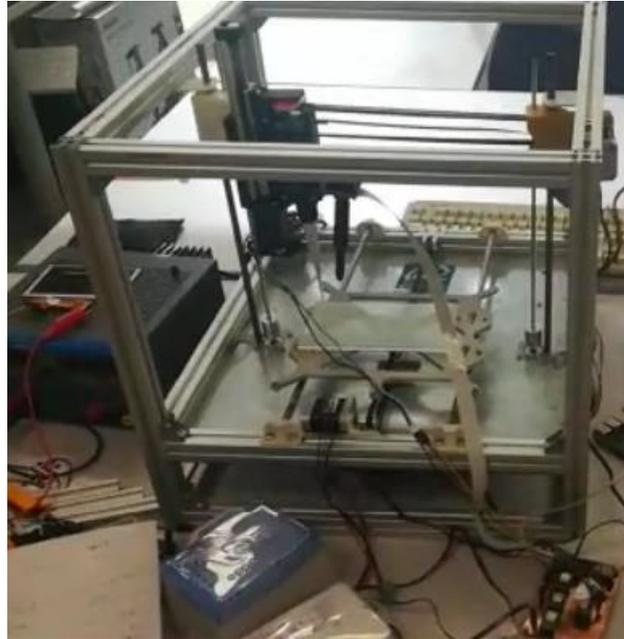


Figura 30. Sistema robotizado cartesiano definitivo.

A continuación se realiza una descripción de las partes más significativas que se utilizaron para el montaje del robot:

4.1 Componentes del sistema cartesiano:

4.1.1 Perfiles t-slot de 6mm: son perfiles de aluminio cuyo objetivo es el de conformar la estructura y dar rigidez a la estructura (fig.31). Para realizar el montaje se han utilizado dos longitudes, las barras de 230 mm se han utilizado para colocarlas horizontalmente y las de 400 mm se montaron verticalmente y todas ellas se unieron mediante escuadras.

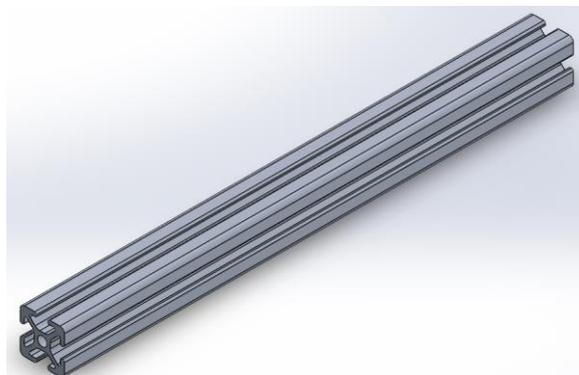


Figura 31. Perfiles t-slot.

4.1.2 Varilla roscada trapezoidal T8: estas varillas serán las encargadas de transmitir el movimiento en el eje z para que la micropipeta suba y baje, estas varillas estarán colocadas verticalmente solidarias a los motores del eje z (fig.33).

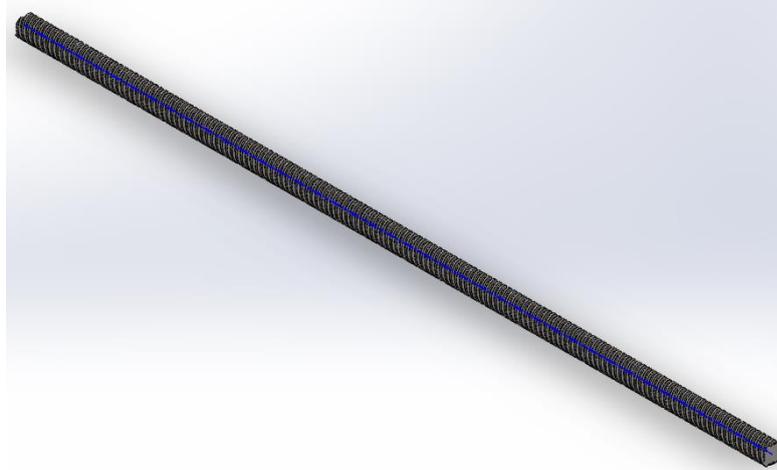


Figura 32. Varilla roscada T8.

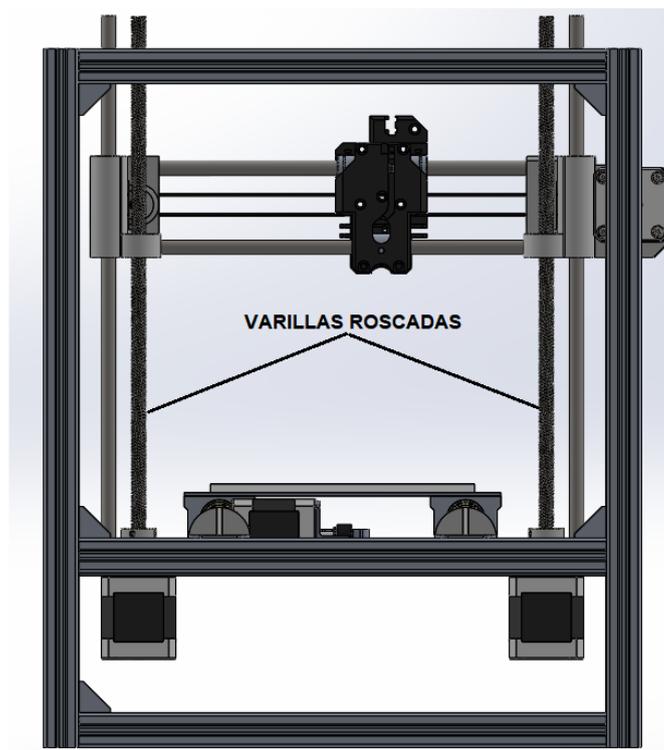


Figura 33. Posición de las varillas en el sistema cartesiano.

- 4.1.3 Varillas lisas de 8 mm:** estas varillas a diferencia de las anteriores no van roscadas, esto se debe a que su función es el de guiar al carril por los ejes para conseguir un desplazamiento lineal y no la de transmitir movimiento.

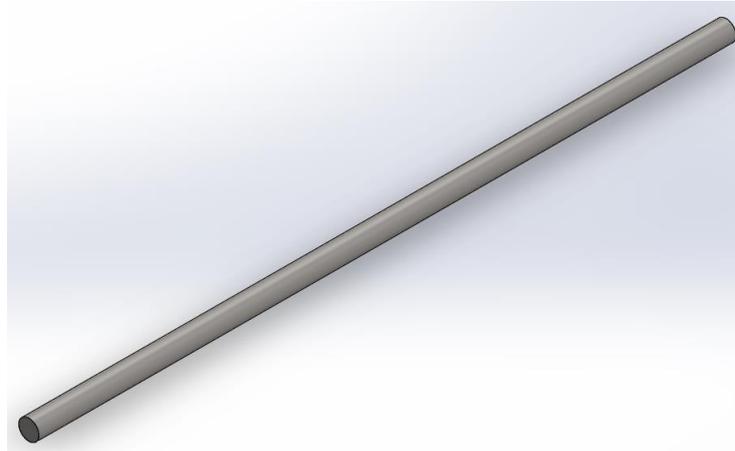


Figura 34. Varilla lisa de 8mm.

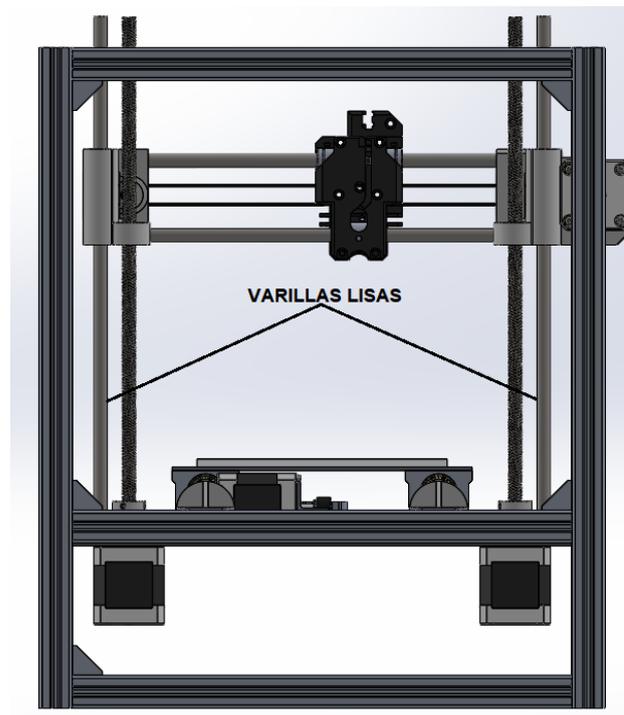


Figura 35. Posición de las varillas lisas en el sistema cartesiano.

- 4.1.4 Correa dentada GT2 2mm de paso:** estas correas son las que transmiten el movimiento desde los motores en los ejes x, y hasta sus correspondientes carros (fig.36)

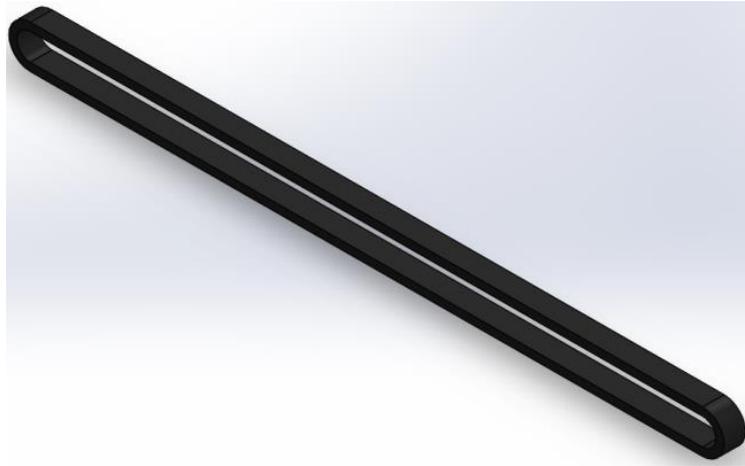


Figura 36. Correa dentada.

- 4.1.5 Motores paso a paso:** la elección de motores paso a paso se ha debido a que se requiere un control de los desplazamientos angulares discretos. Con estos pasos angulares es posible controlar de una forma muy precisa los movimientos lineales en todos los ejes y de la misma manera se controla el desplazamiento el émbolo para dosificar los *C. elegans*. Se han escogido dos motores distintos:

- 4.1.5.1 NEMA 17:** estos motores se utilizarán para desplazar a la micropipeta por el espacio, ver figura 37. Dos motores se encargarán de subir y bajar el sistema de dosificación por el eje z a través de las varillas roscadas que las cuales ya se han descrito. Por otra parte habrá un motor para el eje x y otro para el eje y, que transmitirán el desplazamiento a través de cadenas dentadas también descritas anteriormente.

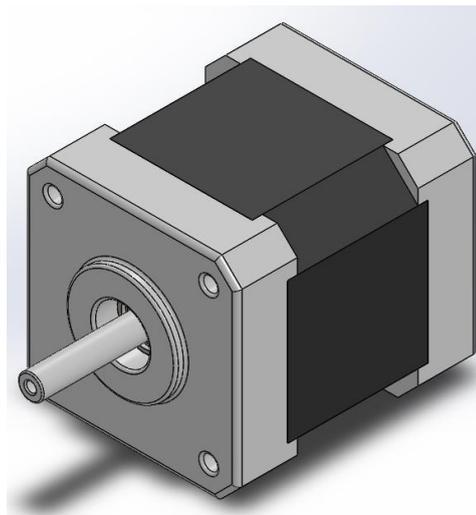


Figura 37. Motor Nema 17.

4.1.5.2 NEMA 11: este motor se utilizarán para presionar el émbolo de la micropipeta (fig.38). En concreto este motor activará el desplazamiento de un carril lineal que, mediante una pieza de plástico, será la encargada de ejercer fuerza sobre el cilindro.

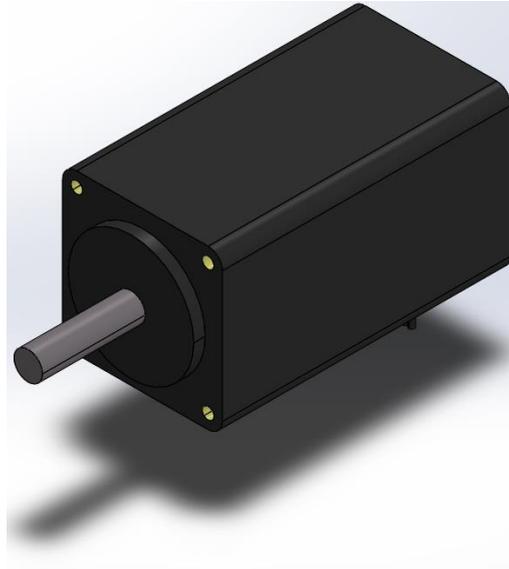


Figura 38. Motor NEMA 11.

4.1.6 Acoplamiento flexible: para atenuar los efectos de posibles desalineaciones en los motores del eje z y en el motor del émbolo se colocan acoplamiento flexible de esta manera se favorece la transmisión del movimiento. Estas piezas tienen doble función ya que también sirven para acoplar ejes a los motores como pueden ser el del carril lineal o el de las varillas roscadas (fig.39).

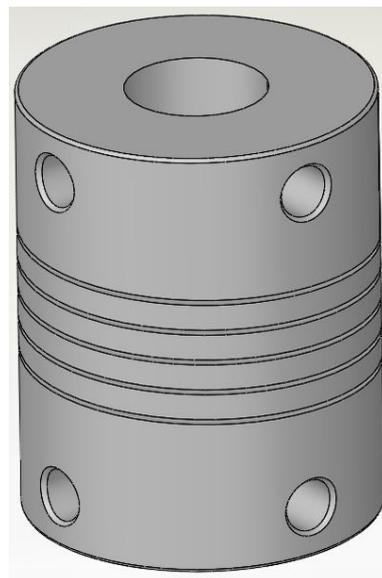


Figura 39. Acoplamiento flexible.

- 4.1.7 Carril lineal:** este carril lineal se utiliza como nexo para transmitir el movimiento lineal entre el motor NEMA 11 y el actuador del pulsador de la micropipeta (fig.40).

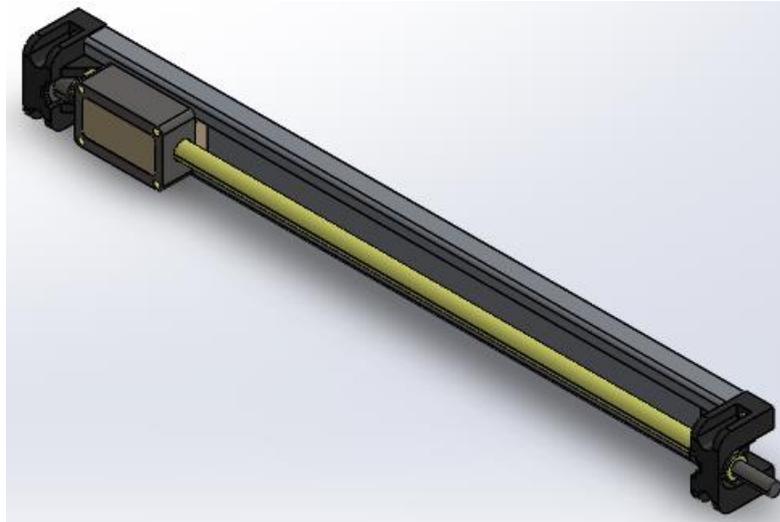


Figura 40. Carril lineal.

- 4.1.8 Cámara y lente:** para poder evaluar y examinar los *C. elegans* se utilizará una cámara raspberry pi con una lente especial que aumenta la imagen con nitidez suficiente para poder monitorizar a los gusanos en todas sus fases de crecimiento (fig.41).

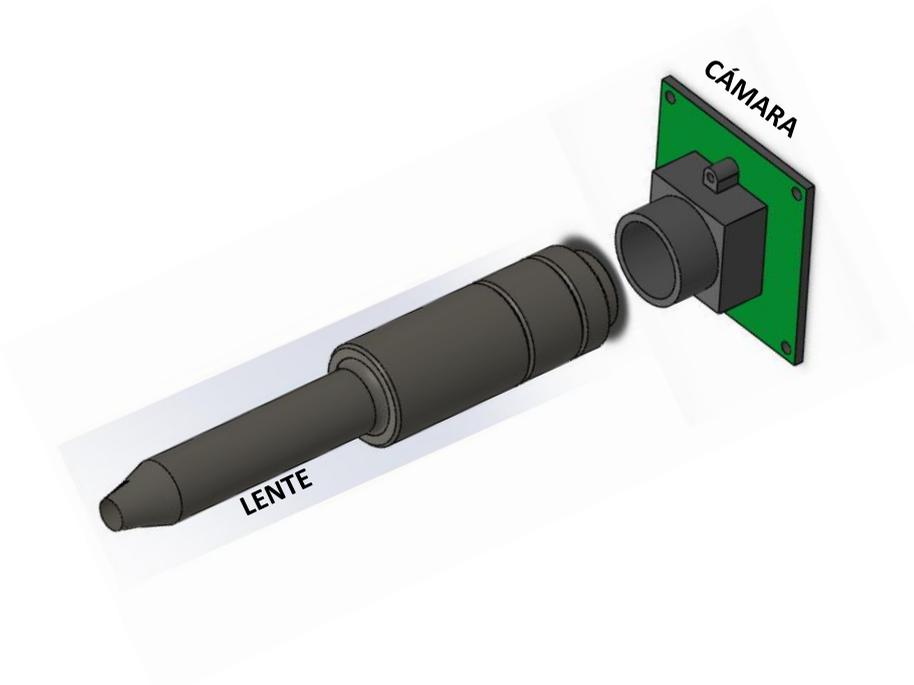


Figura 41. Cámara raspberry con lente.

Para que el robot estuviera mecánicamente operativo fue necesario diseñar y fabricar piezas que adaptarán la micropipeta y la cámara a las demás partes del sistema robotizado. Para ello el alumno mediante el programa Solidworks y métodos de impresión 3D llevo a cabo las siguientes piezas

- 4.1.9 Soporte de la micropipeta y del carril lineal:** esta pieza sirve como nexo entre la micropipeta y el carril lineal. A su vez este soporte se ensambla al carro que se mueve a través del eje x (fig.42).

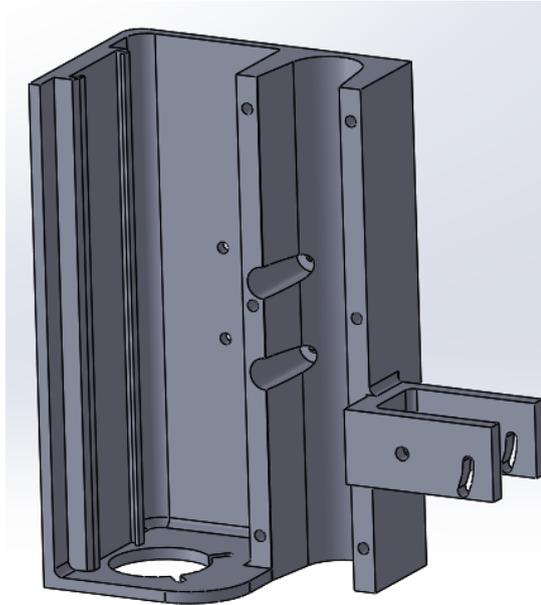


Figura 42. Soporte de la micropipeta y el carril lineal.

- 4.1.10 Abrazaderas:** estas piezas serán las que arriostren la micropipeta al soporte anterior (fig.43).

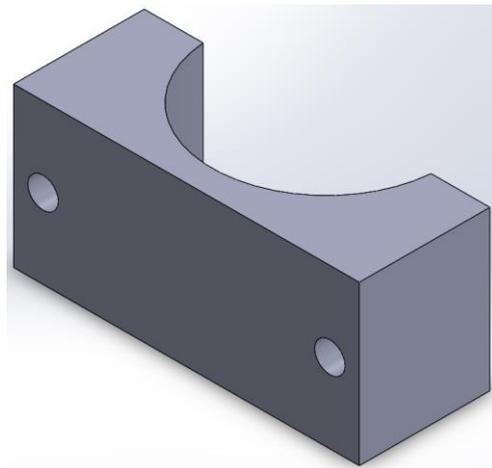


Figura 43. Abrazaderas de la micropipeta.

4.1.11 Actuador del émbolo: de esta pieza ya se ha comentado a lo largo del capítulo, haciendo especial hincapié en su diseño. Se sitúa colocada en el carro del carril lineal y hace la función de dedo pulgar que contacta con el cilindro de la micropipeta (fig.44).

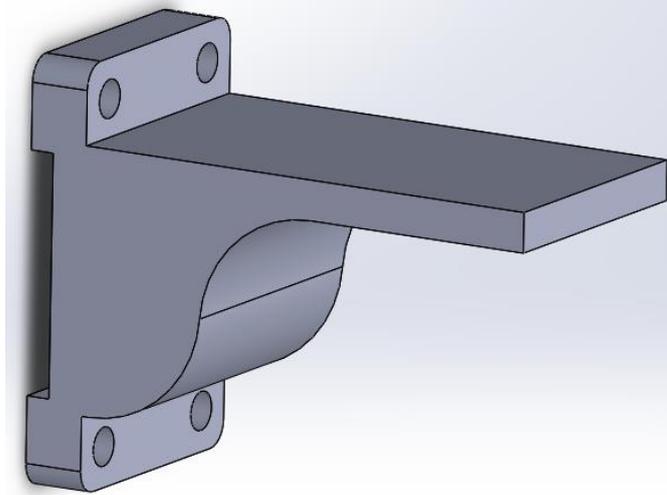


Figura 44. Actuador del émbolo.

4.1.12 Soporte de la cámara: este soporte sirve para arriostrar la cámara al soporte principal y para ajustar la cámara a la punta de la micropipeta. Este ajuste se realiza mediante un grado de libertad que permite a este soporte girar sobre un eje (fig.46).

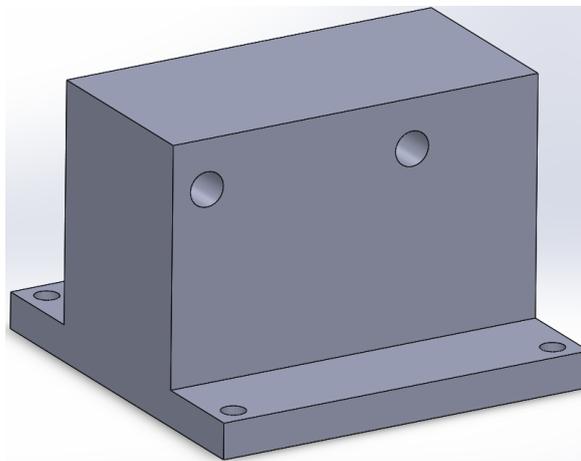


Figura 45. Soporte de la cámara.



Figura 46. Giro del soporte de la cámara.

Finalmente el ensamblaje de todas las piezas originales diseñadas para este proyecto quedan ensambladas de la siguiente manera, tal y como muestra la figura 47:

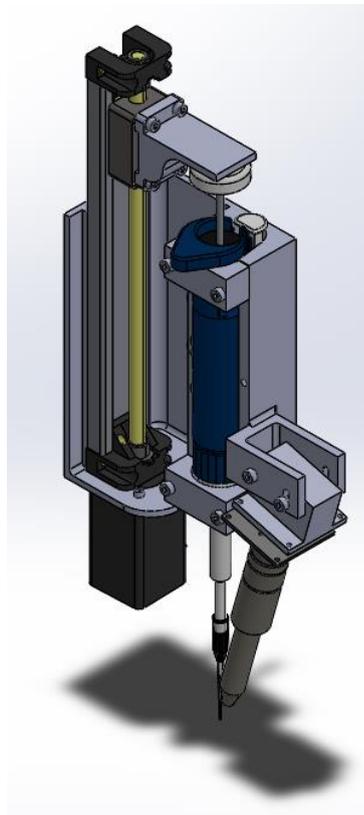


Figura 47. Ensamblaje del sistema de dosificación.

Como ya se ha comentado todas las piezas diseñadas han sido también fabricadas por el propio alumno mediante impresión 3D. Para ello, se han utilizado los siguientes parámetros de impresión parámetros de impresión.

4.2 Fabricación mediante impresión 3D: para desarrollar este punto se mostrará como ejemplo la impresión de una pieza concreta que servirá como ejemplo y esta es el actuador sobre el émbolo. Todas las piezas son del mismo material, poliacido láctico más conocido como PLA. Se ha decidido utilizar este plástico ya que es muy económico y aporta calidades muy buenas.

4.2.1 Ultimaker Cura: tras realizar el diseño con Solidworks y guardar la pieza con extensión STL, se puede proceder a abrir la pieza con el programa Ultimaker Cura, que es un asistente para configurar los parámetros de impresión, los cuales definirán la calidad de la pieza. Los principales parámetros que se han configurado son los siguientes:

4.2.1.1 Altura de capa: este valor afecta a la calidad con la que se imprime la pieza, los valores más bajos producen mejor resolución de la pieza a costa de tiempos de impresión más altos. Para una calidad aceptable de la pieza se ha configurado la altura de capa a 0.2 mm.

4.2.1.2 Grosor de la pared: con un valor medio de 0.8 mm, este parámetro indica el número de paredes que tiene la pieza en dirección horizontal.

4.2.1.3 Densidad de relleno: indica el porcentaje de la pieza que esta maciza, a valores mayores mejor consistencia y rigidez de la pieza, pero si es demasiado alto la calidad del acabado de la pieza se puede ver afectado. Se configura un 20% de relleno, cantidad suficiente para las funciones de estas piezas. El relleno sigue un patrón bidireccional para rigidizar la pieza con poca densidad

4.2.1.4 Temperaturas de impresión: este valor va en función de que material se esté utilizando, en este caso con el PLA basta con imprimir a 200°C, dato que te suele aportar el fabricante.

4.2.1.5 Velocidades: este parámetro define junto a otros la velocidad de impresión, debe haber un equilibrio entre la velocidad de impresión y la velocidad de desplazamiento para que no se produzcan averías en la máquina.

4.2.1.6 Soporte: para piezas que tengan elementos en voladizo es necesario crear un soporte para que estas no se desprendan. Para la pieza de ejemplo no ha sido necesario activarlo pero para la pieza que corresponde al soporte de la micropipeta sí.

4.2.1.7 Tipo de adherencia: esta opción se utiliza para crear un borde alrededor de la pieza para adherir la pieza a la cama de impresión y que no se desprenda de esta durante la operación.

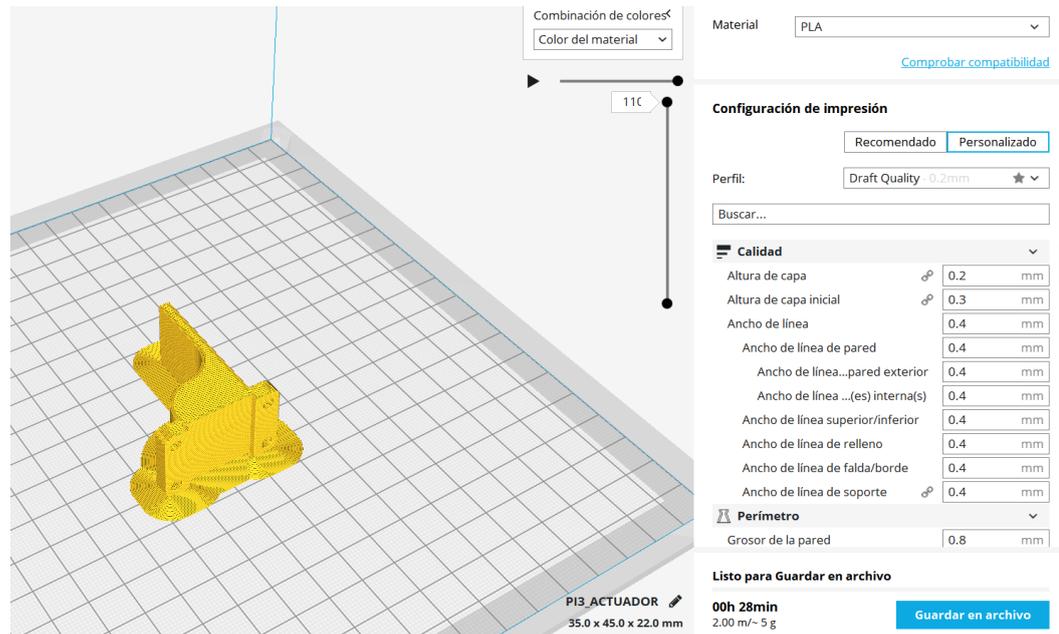


Figura 48. Ejemplo de configuración de una pieza con Cura.

- 4.2.2 Pronterface:** con la ejecución de este programa se prepara físicamente a la impresora 3D para comenzar la operación siguiendo los siguientes pasos para una correcta impresión:
- 4.2.2.1** Mediante la pestaña home se lleva el extrusor hasta la esquina inferior izquierda de la cama, desde este vértices es donde las impresoras tienen el punto de partida para imprimir.
 - 4.2.2.2** Se calienta el extrusor a 205°C para introducir el PLA.
 - 4.2.2.3** Cuando el extrusor el material se introducido se puede cargar la pieza y empezar la impresión.
 - 4.2.2.4** Antes de que comience la operación de impresión de la pieza es conveniente cubrir con una capa muy fina de un aerosol adhesivo la cama. De esta manera la pieza se queda bien pegada a la cama evitando movimientos durante el proceso.

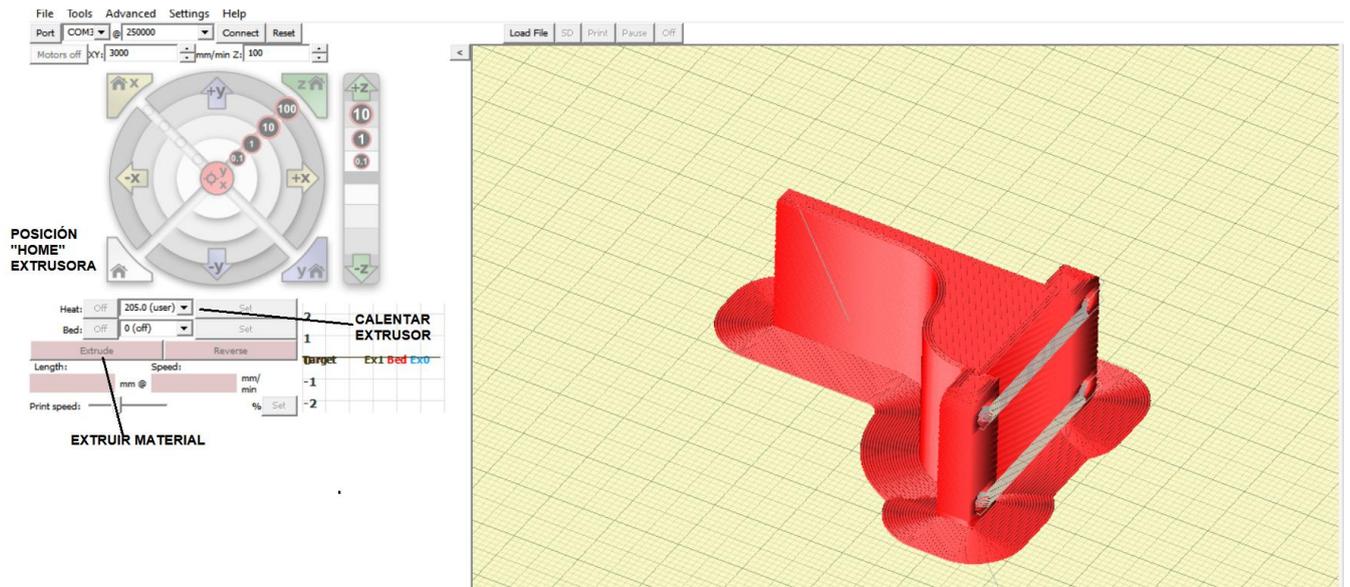


Figura 49. Ejemplo de configuración de una pieza con Pronterface.

4.2.3 Proceso de impresión: tras haber configurado todos los parámetros de impresión y haber preparado correctamente a la impresora para la operación, se ejecuta la pieza como se ve en la figura 50.

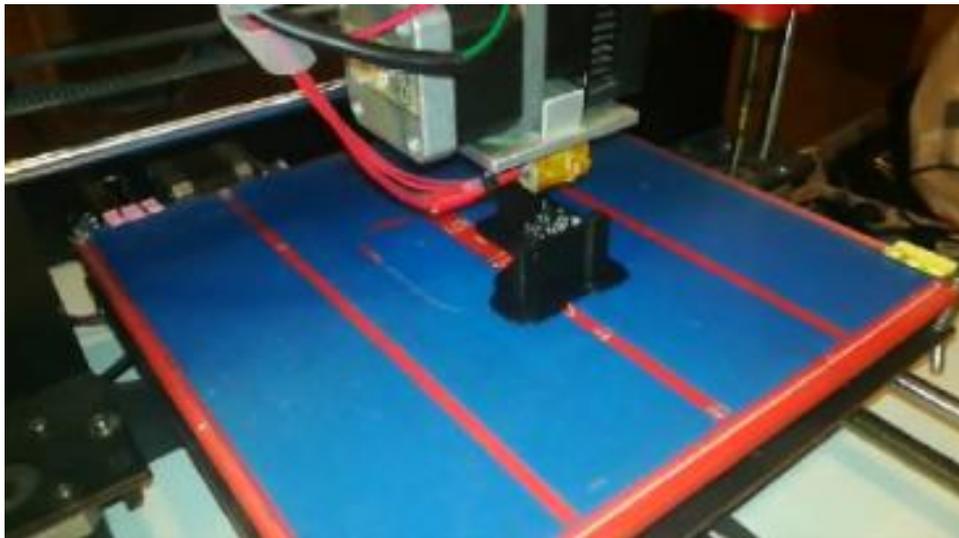


Figura 50. Proceso de impresión 3D del actuador del émbolo.

Cada pieza que se ha fabricado ha tenido una duración de impresión distinta en función de su tamaño y si ha requerido soporte en la siguiente tabla se pueden consultar los tiempos de cada pieza:

TIEMPOS DE IMPRESIÓN DE LAS PIEZAS	
Pieza	Tiempo
Actuador del émbolo	29 minutos
Soporte de la micropipeta	4 horas 9 minutos
Soporte de la cámara	37 minutos
Abrazaderas	21 minutos

Tabla 3. Tiempos de impresión de las piezas

CAPÍTULO 5. CONTROL DEL SISTEMA

El siguiente paso para el desarrollo del TFM es el de controlar los motores que conforman la dinámica del sistema. Este control está formado por un montaje electrónico y por la programación de una ruta de control. El objetivo del control del sistema es que se lleve a cabo con éxito la acción de dosificación de los *C. elegans*.

5.1 Montaje electrónico: el montaje del circuito forma la parte física del control y está compuesto por varios componentes, los cuales desempeñan una función concreta dentro mando del sistema.

5.1.1 DRV A4988: se tratan de drivers para el control de los motores paso a paso. Cada motor está gobernado por un driver, es decir, son necesarios un total de 5d drivers. Este modelo presenta especificaciones muy interesantes para el sistema robotizado que se está desarrollando ya que permite un amplio abanico de pasos configurables, desde pasos completos hasta 1/16 por paso. Esta característica es realmente favorable a un control mucho más minucioso del movimiento del robot. También permite configurar la salida de corriente máxima desde un potenciómetro (fig. 59).



Figura 51. DRV A4988 Fuente: <https://www.pololu.com/product/1182>

De la propia página del fabricante, Pololu, se han recopilado las especificaciones más importantes del driver y se han recogido en la siguiente tabla:

ESPECIFICACIONES DEL DRIVER A4988	
Tamaño	0,6x0,8 in
Tensión de funcionamiento	[8-35] V
Máxima corriente por fase	2 A
Resoluciones de microstep	Completo, 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16

Tabla 4. Especificaciones del driver A4988.

El esquema de del driver es fundamental para un correcto montaje del circuito de control, en este se indica la función de cada pin y como deben ir conectados, dicho esquema se puede observar en la siguiente figura:

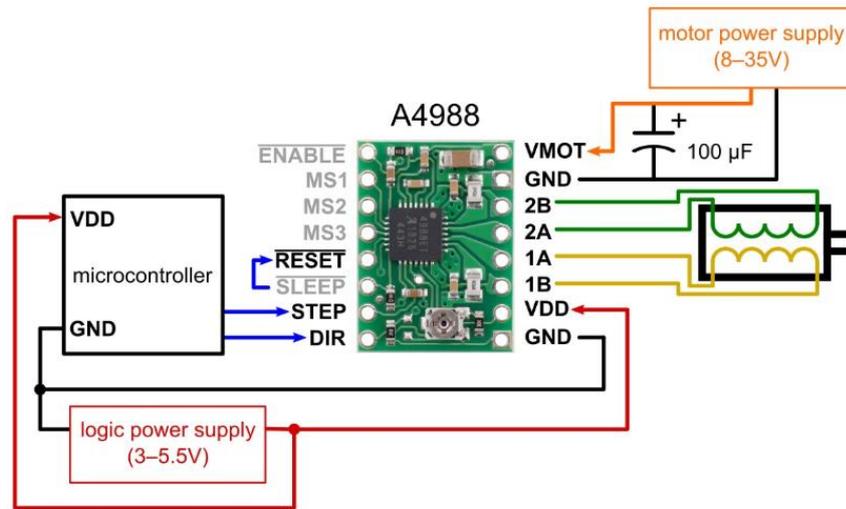


Figura 52. Esquema de funcionamiento del driver A4988. Fuente: <https://www.pololu.com/product/1182/pictures>.

Los pines de STEP y DIR serán controlados desde un microcontrolador, este mandará pulsos que cada uno de ellos corresponde a un micropaso en la dirección seleccionada por el pin DIR. Para configurar la resolución hay que configurar los pines MS1, MS2 y MS3 según la siguiente tabla:

RESOLUCIÓN DE LOS PASOS DEL MOTOR			
MS1	MS2	MS3	Resolución
Bajo	Bajo	Bajo	Paso completo
Alto	Bajo	Bajo	1/2 paso
Bajo	Alto	Bajo	1/4 paso
Alto	Alto	Bajo	1/8 paso
Alto	Alto	Alto	1/16 paso

Tabla 5. Resolución de los pasos del motor. Fuente: <https://www.pololu.com/product/1182>

5.1.2 Microcontrolador Teensy 3.6: Teensy es microcontrolador de 32 bits el cual se puede programar desde el IDE de arduino mediante el complemento Teensyduino, el cual se utiliza en este TFM para realizar la rutina de control. Este microcontrolador será el encargado de mandar las órdenes de desplazamiento a los drivers de los motores. En la figura 53 se puede contemplar el modelo de microcontrolador que se utiliza en el proyecto:

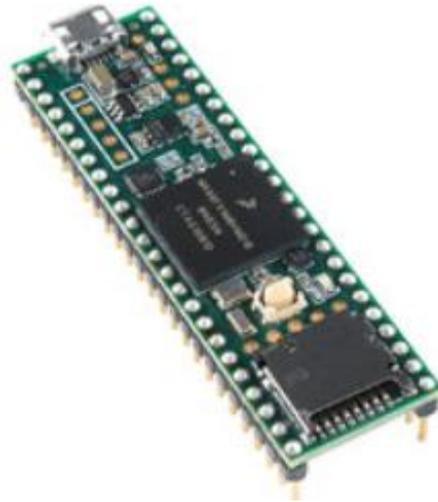


Figura 53. Placa teensy 3.6. Fuente: <https://www.digikey.es/es/product-highlight/s/sparkfun/teensy-3-6-development-boards>.

Este microcontrolador cuenta con 48 pines, los cuales se pueden ver en el esquema de la figura 54. De todos estos pines, se utilizarán los siguientes:

- **Pines del 2 al 11:** para controlar los pines STEP y DIR de los driver de cada motor.
- **Gnd:** para una conexión a tierra.
- **Alimentación a 5V:** para alimentar de energía eléctrica al microcontrolador.

Realizar la conexión de esta manera fue solo una forma provisional de probar el circuito, surgió la necesidad de desarrollar una placa de circuito impreso (PCB), evitando así posibles desconexiones del cableado, realizando así un montaje completo del circuito.

El diseño de la PCB fue realizado por el propio alumno para que más tarde lo fabricaran en el laboratorio.

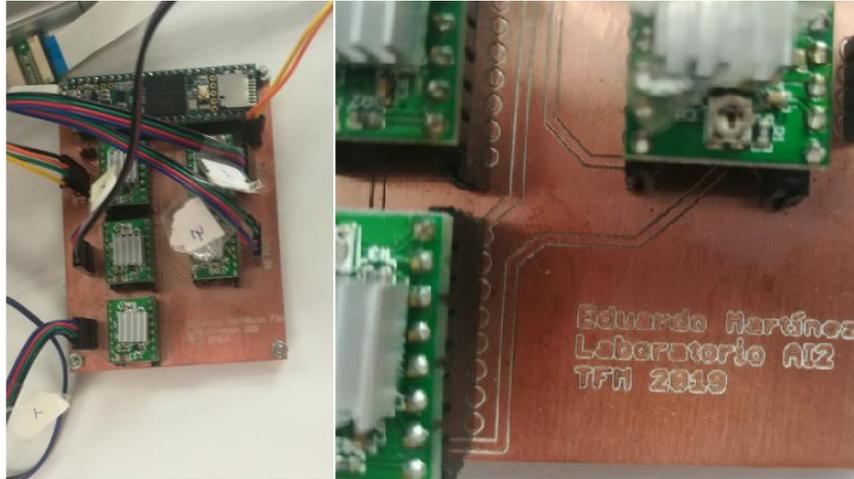


Figura 56. PCB.

5.1.3.1 Diseño de la PCB: para la realización del diseño de la placa se ha utilizado el software Eagle, con el cual se puede trazar el esquema del circuito. Para realizar el esquema se han tenido en cuenta los diagramas de conexión tanto del microcontrolador como de los drivers. En la figura 57 se muestra el esquema de conexiones de todo el circuito de control.

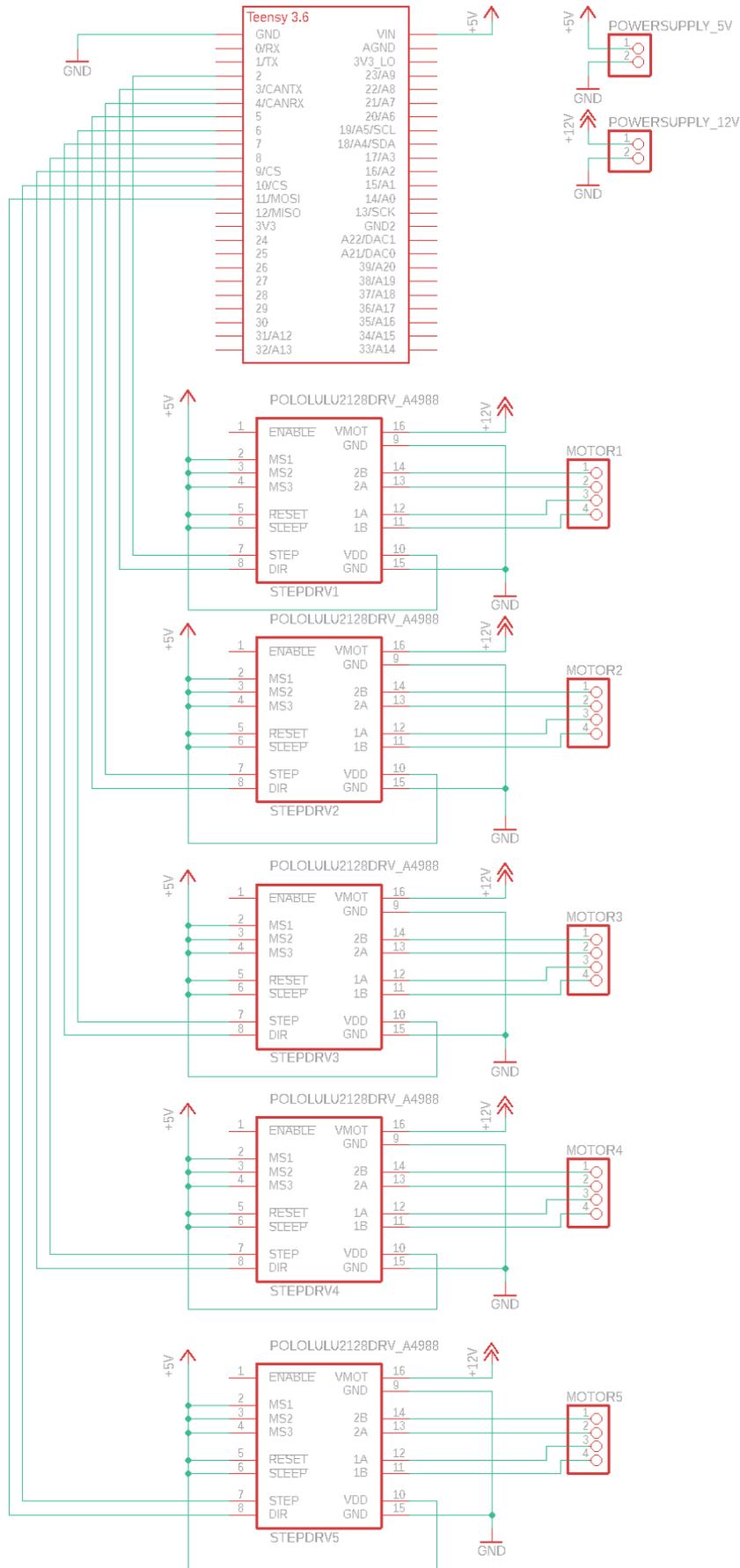


Figura 57. Esquema del circuito con Eagle.

Después de diseñar por completo el esquema de conexiones del circuito, se define el espacio físico que ocupa el circuito impreso sobre la placa de cobre tal y como se observa en la figura 58.

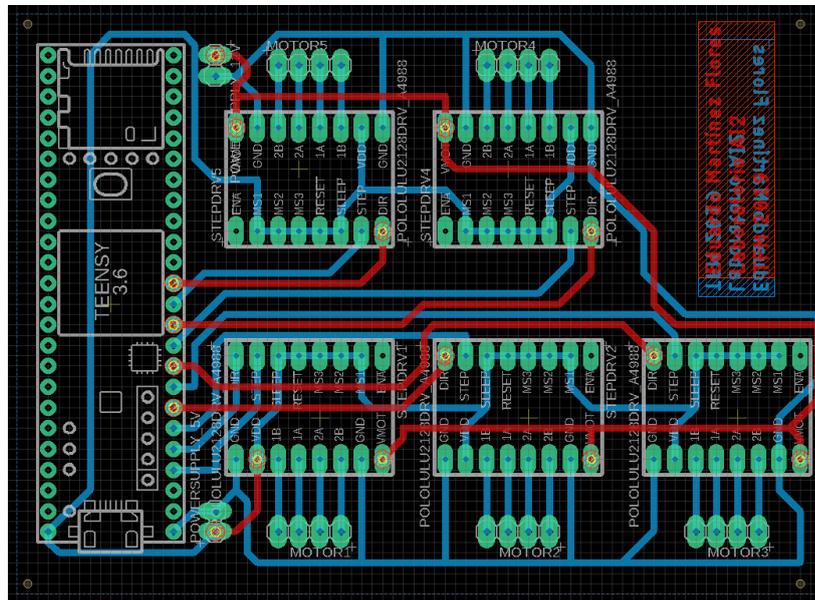


Figura 58. Board de la PCB.

Finalmente se puede ejecutar la fabricación de la PCB tal y como se puede ver en la siguiente imagen:

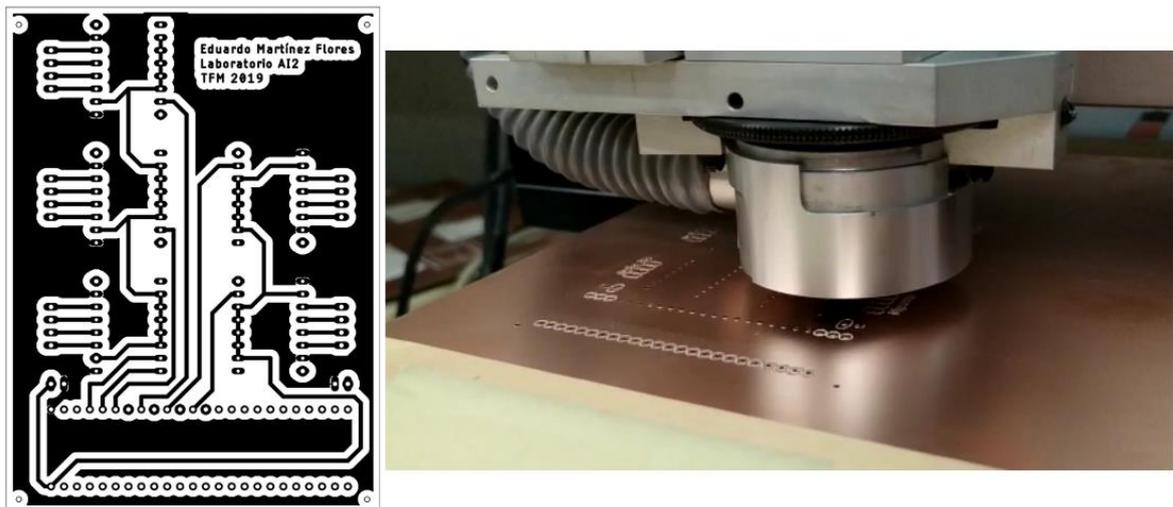


Figura 59. Proceso de fabricación de la PCB.

5.2 Programación de la rutina de control: teniendo todas las conexiones del circuito realizadas se desarrolló la rutina para llevar a cabo la dosificación de los *C. elegans*.

Tal y como se ha expuesto al comienzo de este capítulo la programación del control del sistema robotizado se ha realizado con un complemento llamado “Teensyduino” que permite al usuario acceder al microcontrolador desde un entorno de arduino. Para poder controlar los pasos de los motores involucrados en el sistema se ha hecho uso de una librería llamada “TeensyStep”. Esta librería permite un control total de los motores con las especificaciones recogidas en la siguiente tabla:

ESPECIFICACIONES CLAVE DE TEENSYSTEP	
Velocidades del motor	1-300000 stp/s
Aceleración	0-500000 stp/s ²
Movimiento síncrono	Hasta 10 motores

Tabla 6. Especificaciones clave de TeensyStep. Fuente: <https://luni64.github.io/TeensyStep/>.

Tras varias pruebas para aprender a manejar la librería y saber que parámetros eran más eficientes para los motores que se utiliza se pasó a diseñar la rutina de control la cual se ilustra en la siguiente figura mediante un diagrama de bloques:

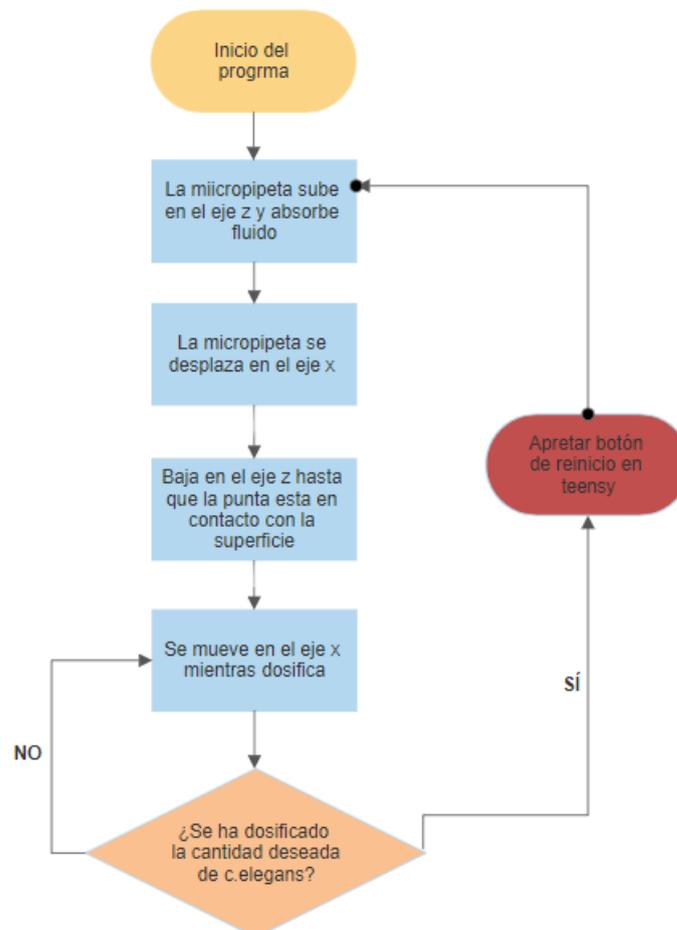


Figura 60. Diagrama de bloques de la rutina de control.

El diagrama de la figura 60 se traduce en las siguientes líneas de código que son las que ejecutan la rutina desde el microcontrolador:

```
#include <Arduino.h>
#include <StepControl.h>
#include <TeensyThreads.h>
Stepper Mp(2,3);
Stepper Mx(4,5);
Stepper Mxf(4,5);
Stepper Mz1(8,9);
Stepper Mz2(10,11);
StepControl<> controller; //Objeto de control
void setup(){
  Mp
  .setMaxSpeed(200000/100)
  .setAcceleration(500000/30);
  Mpf
  .setMaxSpeed(600000/100)
  .setAcceleration(500000/30);
  Mx
  .setMaxSpeed(10000/200)
  .setAcceleration(100000/50);
  Mxf
  .setMaxSpeed(60000/200)
  .setAcceleration(100000/50);
  Mz1
  .setMaxSpeed(300000/100)
  .setAcceleration(500000/30);
  Mz2
  .setMaxSpeed(300000/100)
  .setAcceleration(500000/30);
}
void loop(){
  constexpr int spr=16*200;
  Mz1.setTargetRel(0.2*spr);
  Mz2.setTargetRel(0.2*spr);
  Mp.setTargetRel(0.08*spr);
  controller.move(Mz1,Mz2,Mp);
  delay(3000);
  Mxf.setTargetRel(0.025*spr);
  controller.move(Mxf);
  delay(2000);
  Mz1.setTargetRel(-0.2*spr);
  Mz2.setTargetRel(-0.2*spr);
  controller.move(Mz1,Mz2);
```

```
delay(3000);  
Mx.setTargetRel(1.5*spr);  
Mp.setTargetRel(-3*spr);  
controller.move(Mx,Mp);  
delay(1000);  
controller.stop();  
}
```

A continuación se expondrán las partes más importantes del código anterior:

```
#include <Arduino.h>  
#include <StepControl.h>  
#include <TeensyThreads.h>
```

En estas primeras líneas se encargan de cargar las librerías necesarias que permiten controlar los motores del sistema desde el entorno arduino

```
Stepper Mp(2,3);  
Stepper Mx(4,5);  
Stepper Mxf(4,5);  
Stepper Mz1(8,9);  
Stepper Mz2(10,11);
```

Cada motor está conectado a un driver y cada driver a unos pines numerados al microcontrolador Teensy. En este trozo de código se crean las variables para cada motor en función de en qué pines estén conectados. Incluso si es necesario se puede vincular más de una variable a los mismos pines. Al mismo motor se le pueden vincular variables diferentes para configurar distintas velocidades tal y como se ha hecho para esta rutina, en concreto, para el motor que gobierna el carro en el eje x.

```

Mp
.setMaxSpeed(200000/100)
.setAcceleration(500000/30);
Mpf
.setMaxSpeed(600000/100)
.setAcceleration(500000/30);
Mx
.setMaxSpeed(10000/200)
.setAcceleration(100000/50);
Mxf
.setMaxSpeed(60000/200)
.setAcceleration(100000/50);
Mz1
.setMaxSpeed(300000/100)
.setAcceleration(500000/30);
Mz2
.setMaxSpeed(300000/100)
.setAcceleration(500000/30);

```

A cada motor se les están asignando una máxima velocidad y aceleración. Estos parámetros se han decidido en función de múltiples pruebas previas que se han realizado. Esto ha permitido que se puedan ajustar la cinemática del robot a las necesidades del sistema. Cabe destacar, tal y como se comentaba antes, que para un mismo motor se configuran distintas velocidades para eliminar tiempos ociosos en el movimiento o para evitar colisiones y movimientos excesivamente elevados.

```
constexpr int spr=16*200;
```

La variable que se está definiendo calcula los pasos por revolución a los que configuramos nuestros motores. $1/16$ es la resolución más alta a la que el sistema es capaz de llegar y 200 stp/rev es el paso estándar que tienen los motores NEMA utilizados. Esto significa que por cada paso se recorren $1,8^\circ$. Por lo tanto spr dará un valor de 3200 pasos por revolución. Todos los movimientos que ejecutemos serán en función de spr, de esta manera se tendrá una referencia común para la ejecución de todos los desplazamientos y se podrán controlar los motores a bajo nivel.

```
Mz1.setTargetRel(0.2*spr);
Mz2.setTargetRel(0.2*spr);
Mp.setTargetRel(0.08*spr);
controller.move(Mz1,Mz2,Mp);
delay(3000);
Mxf.setTargetRel(0.025*spr);
controller.move(Mxf);
delay(2000);
Mz1.setTargetRel(-0.2*spr);
Mz2.setTargetRel(-0.2*spr);
controller.move(Mz1,Mz2);
delay(3000);
```

Desde estas líneas de código es desde donde se ejecutan los movimientos relativos del sistema en función de spr. En definitiva en esta parte de la programación se realiza el movimiento de pipeteo y del de los tres ejes, así como los tiempos de espera entre cada movimiento ajustados tras la realización de pruebas previas.

CAPÍTULO 6. EVALUACIÓN Y VISIÓN DEL SISTEMA

Antes de realizar pruebas es necesario para los objetivos del proyecto, desarrollar un sistema de visión y evaluación para observar la punta de la pipeta y la dosificación de los *C. elegans*. Para ello, se ha instalado una cámara raspberry pi con una lente focal especial para realizar dicha tarea.

6.1 Visión del sistema microfluídico: como ya se ha adelantado el sistema está compuesto por una cámara raspberry pi y una lente. Para el control y el manejo de esta tecnología se ha utilizado una raspberry pi 3 y una pantalla táctil a modo de monitor.



Figura 61. Equipo para la visión de microfluidos.

Tras la configuración e instalación de la cámara se ha procedido a realizar en Python un programa que permita realizar capturas y guardar videos al mismo tiempo que se puede observar a tiempo real lo que está ocurriendo en la punta de la pipeta. El código se muestra a continuación:

```
from picamera import PiCamera
from time import sleep

camera=PiCamera()
camera.start_preview()
camera.start_recording("video_prueba.h264")
sleep(90)
camera.capture("capture_prueba.jpg")
sleep(90)
camera.capture("captura2_prueba.jpg")
camera.stop_preview()
```

El proceso que sigue el código anterior se explica con el siguiente diagrama de bloques:



Figura 62. Diagrama de bloques del control de la cámara

Después de haber finalizado el código para el control de la cámara ya se tiene todo dispuesto para realizar experimentos con *C. elegans*. Estas pruebas tienen como objetivo ajustar la posición de la cámara y enfocar la punta de la micropipeta, realizar pruebas de iluminación para no obtener imágenes demasiado oscuras y comprobar que todo funciona correctamente para realizar pruebas finales.

6.2 Pruebas previas: para realizar estas pruebas se utilizó agua, poniendo en marcha la rutina de control se obtuvieron imágenes como las que se pueden ver a la derecha de la figura 63. Estas imágenes ofrecen una calidad de imagen óptima y son suficientes para realizar las pruebas finales.

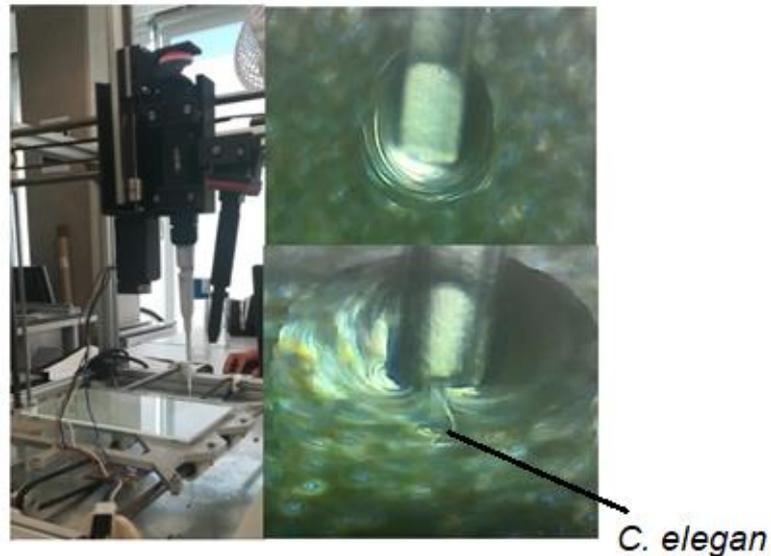


Figura 63. Punta de la micropipeta enfocada con la lente.

Con estas pruebas también se pudieron comprobar otras hipótesis del proyecto hasta este momento no demostradas como la rotura de la tensión superficial arrastrando la punta por la superficie, expuesta en el capítulo 3. En la siguiente imagen, figura 64, se puede comprobar como sobre superficie se va depositando un surco de agua.



Figura 64. Rotura de la tensión superficial.

CAPÍTULO 7. PRUEBA FINAL Y CONCLUSIONES

Habiéndose completado todas las fases de desarrollo del prototipo, en las que se incluyen simulación microfluídica, diseño mecánico, fabricación de piezas, montajes mecánicos, montajes electrónicos e instalación de equipos de visión se pasa, después de unas pruebas previas, a realizar una prueba final en la que se disponen de especímenes de *C. elegans* en todas sus fases de crecimiento. Esto permite comprobar si se alcanzan a ver los gusanos L1. Por ello lo primero que se hizo fue dosificar, sin ningún interés en establecer un control sobre el número de gusanos distribuidos, varios *C. elegans* obteniendo como resultado la figura 65.

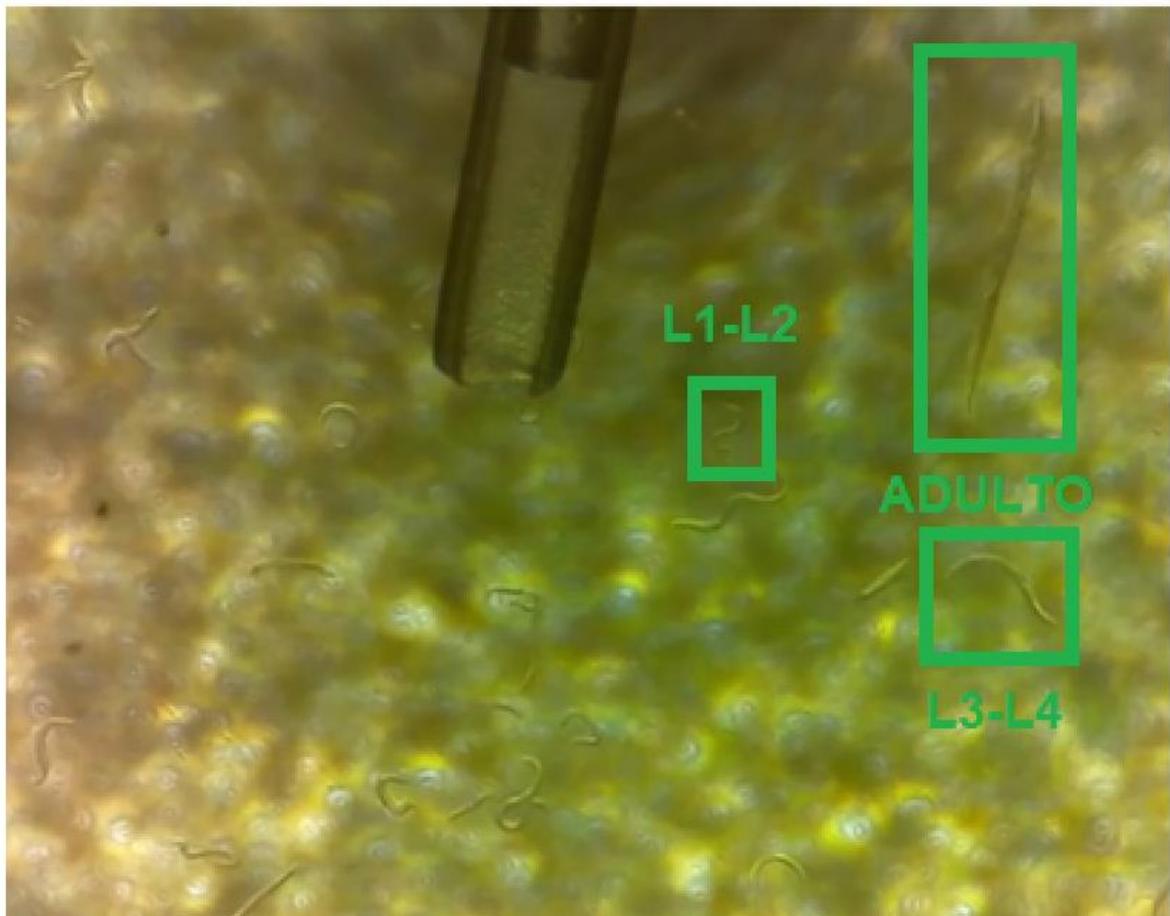


Figura 65. Población de *C. elegans* moviéndose libremente por la superficie.

Se comprueba que la imagen ofrece una visión suficientemente amplia como para distinguir a los *C. elegans* en todas sus fases de crecimiento.

Después de validar que el equipo de visión es óptimo para el proyecto se aplica la rutina de control de la misma manera que se aplicó en las pruebas previas expuestas en el capítulo 6. Es en el momento en el que se ve un *C. elegans* o un grupo de ellos salir por la punta de la pipeta cuando el usuario aprieta el botón de reinicio de Teensy para aislar a los gusanos. En la figura 66 se puede ver a un espécimen aislado tras haber sido dosificado.



Figura 66. Dosificación de un *C. elegans*.

En este caso se logra aislar a un único *C. elegans*, pero no siempre ha sido factible. Si la población de *C. elegans* recogida por la micropipeta es demasiado grande, cabe la posibilidad de que no se controle los gusanos que se dosifican, esto complica en gran medida el control. Este fenómeno se debe a que el diámetro de la punta de la pipeta es demasiado alto para los gusanos menos desarrollados, lo que permite que los especímenes puedan salir de la punta de la pipeta al mismo tiempo sin ningún tipo de control. Como se puede ver en la figura 67 existen demasiados *C. elegans* dosificados, los cuales no pueden ser clasificados en pequeños grupos. En este caso se pueden volver a recoger los gusanos con la micropipeta y volver a intentar dosificarlos.



Figura 67. Dosificación de un grupo de *C. elegans*.

Tras haber sido efectuadas las últimas pruebas con los *C. elegans* se puede concluir que el sistema diseñado es válido para dosificar volúmenes del orden de microlitros con una repetibilidad muy alta. En el caso de la dosificación de *C. elegans* si la población de gusanos es elevada el control para dejar un único espécimen puede llegar a ser costoso e inexacto por lo que hay que recurrir a bucles de control para intentar realizar dosificaciones más discretas o ensamblar una pieza para disminuir el diámetro de la punta de la micropipeta. De la misma manera se podrían añadir distintas soluciones para completar y mejorar el sistema, todas estas ideas estarán desarrolladas en el siguiente capítulo.

En definitiva y a modo de conclusión sobre el prototipo realizado para este TFM, se puede decir que se han conseguido el objetivo previsto que era el de controlar una micropipeta para dosificar microfluidos aplicándolo al campo de la medicina y analizar su posible aplicación a dosificar *C. elegans*. De esta forma se han visto y evaluado las posibles mejoras y oportunidad del mismo, las cuales sirven para definir trabajos futuros y pasar del prototipo (objeto de este TFM) a un producto final.

CAPÍTULO 8. TRABAJOS FUTUROS

Como se ha mencionado en la parte de conclusiones del capítulo 8, el prototipo, está sujeto a mejoras para hacerlo más fiable. Estas mejoras se expondrán a continuación con el objetivo de guiar trabajos futuros sobre el sistema robotizado:

- 8.1 Control de modo deslizante:** con este bucle de control se pueden estabilizar algunas clases de sistemas que tengan aplicaciones electromecánicas como con el control de las velocidades del sistema o servomecanismos. Este método es interesante desde el punto de vista de este proyecto para controlar el motor que gobierna el émbolo de la micropipeta y de este modo controlar de una manera más exacta el volumen que dosificamos por la punta.
- 8.2 Visión artificial:** con el uso de visión artificial se podrían identificar el número de gusanos que se dosifican con la micropipeta predefiniendo de esta manera la rutina que seguiría el cartesiano y automatizando a todos los niveles el proceso. Este trabajo podría ser desarrollado mediante OpenCv, siendo válido el equipo con el que ya cuenta el prototipo. Estos tipos de reconocimientos visuales están muy extendidos como por ejemplo en el reconocimiento de otras especies como se puede ver en la figura 68:

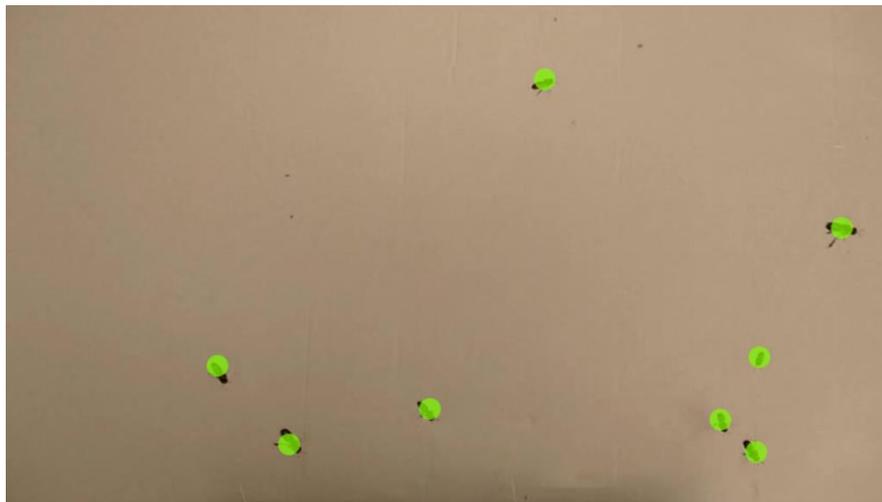


Figura 68. Reconocimiento de abejas mediante opencv. Fuente: [https://go-bees.readthedocs.io/es/develop/documentacion/5 AspectosRelevantes.html](https://go-bees.readthedocs.io/es/develop/documentacion/5_AspectosRelevantes.html)

- 8.3 Disminuir el área de la punta:** se puede hacer una pieza que se ensamble a la punta de la micropipeta para disminuir la sección de salida de la micropipeta y crear así un efecto embudo evitando el paso de un número grande de *C. elegans*.

8.4 Manejo con joystick de la micropipeta: sería de gran interés que el usuario sea capaz de controlar el sistema en su totalidad mediante un joystick. De esta manera se controlaría manualmente la micropipeta en el espacio, y la dosificación de los gusanos. Para ello teensy tiene un complemento para el uso de joysticks de hasta 32 botones, que permitiría programar esta opción. La ventaja de esta mejora es que el prototipo cuenta con todo el hardware (menos el joystick) necesario para llevarla a cabo.

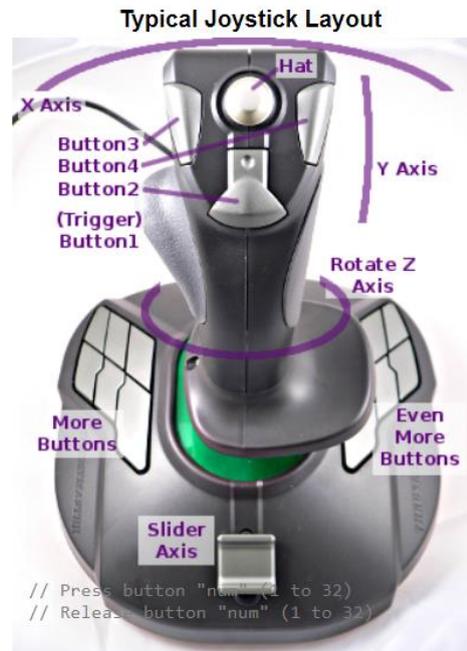


Figura 69. Layout de un joystick para Teensy. Fuente: https://www.pjrc.com/teensy/td_joystick.html.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 CSIC. *Seres modélicos, Caenorhabditis elegans*. Recuperado de <http://seresmodelicos.csic.es/cuc.html>
- 2 Herndon, Laura (2012). *Introduction to C. elegans anatomy*. Recuperado de <https://www.wormatlas.org/hermaphrodite/introduction/mainframe.htm>
- 3 Gilson. *Pipetman_classic_features*. Recuperado de <https://es.gilson.com/ESSV/catalogsearch/result/index/?f=system+pipetman+364&q=system+pipetman>
- 4 Comsol. *Application Gallery*. Recuperado de <https://www.comsol.com/models>
- 5 O. Wilkes, James (2017). *Fluid mechanics for chemical engineer: with microfluidics, CFD, and COMSOL Multiphysics 5, 3rd Edition*.
- 6 Pololu. *A4988 Stepper Motor Driver Carrier*. Recuperado de <https://www.pololu.com/product/1182>
- 7 Sparkfun. *Placas de desarrollo Teensy 3.6*. Recuperado de <https://www.digikey.es/es/product-highlight/s/sparkfun/teensy-3-6-development-boards>
- 8 PJRC. *Teensy 3.6 pins*. Recuperado de <https://www.pjrc.com/teensy/pinout.html>
- 9 Torres-Ortega, H (2014). *Guía de diseño de PCB con EAGLE*. Recuperado de: <https://hetpro-store.com>
- 10 Heydejack (2019). *TeensyStep*. Recuperado de https://luni64.github.io/TeensyStep/index#_navigation
- 11 Castilla Fernández (1998), Miguel. *Modelos no lineales y control en modo deslizamiento de convertidores de estructura resonante*. Recuperado de https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/93658/06_castillaFernandez_capitol_5.pdf
- 12 Turmero, Pablo. *Control en modo deslizante de la velocidad de un motor de inducción*. Recuperado de <https://www.monografias.com/trabajos102/sustentacion-control-modo-deslizante-velocidad-motor-induccion/sustentacion-control-modo-deslizante-velocidad-motor-induccion.shtml>
- 13 PJRC. *Using USB Joystick*. Recuperado de https://www.pjrc.com/teensy/td_joystick.html
- 14 Modular. *Materiales y herramientas*. Recuperado de <https://www.modular.de>
- 15 RS Componentes. *Componentes electrónicos*. Recuperado de <https://es.rs-online.com/web/>
- 16 Linkedin salary. *Salario de ingeniero industrial*. Recuperado de https://www.linkedin.com/salary?trk=jobshome_linkedin_salary
- 17 *Sumario de presupuestos*. <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.1/14450/Pressupost.pdf?sequence=5&isAllowed=y>
- 18 Qin, Y. (2010). *Micromanufacturing engineering and technology*. William Andrew.
- 19 Sanchez-Salmeron, A. J., Lopez-Tarazon, R., Guzman-Diana, R., & Ricolfe-Viala, C. (2005). Recent development in micro-handling systems for micro-manufacturing. *Journal of materials processing technology*, 167(2-3), 499-507.
- 20 Sanchez-Salmeron, A. J., Lopez-Tarazon, R., Guzman-Diana, R., & Ricolfe-Viala, C. (2010). An inter-machine material handling system for micro-manufacturing based on using a standard carrier. *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, 47(9-12), 937-943.
- 21 Sanchez-Salmeron, A. J., & Ricolfe-Viala, C. (2012). A flexible packaging station for micro-bulk-forming applications based on a standard carrier. *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, 61(5-8), 529-536.
- 22 Sanchez-Salmeron, A. J., & Ricolfe-Viala, C. (2010). A bi-linear-vibratory feeder system for micro-bulk-forming applications. *STEEL RESEARCH INTERNATIONAL*, 81(9), 1205-1208.
- 23 Percoco, G., & Salmerón, A. J. S. (2015). Photogrammetric measurement of 3D freeform millimetre-sized objects with micro features: an experimental validation of the close-range camera calibration model for narrow angles of view. *Measurement Science and Technology*, 26(9), 095203.
- 24 Percoco, G., Lavecchia, F., & Salmerón, A. J. S. (2015). Preliminary study on the 3D digitization of millimeter scale products by means of photogrammetry. *Procedia CIRP*, 33, 257-262.

- 25 Percoco, G., Guerra, M. G., Salmeron, A. J. S., & Galantucci, L. M. (2017). Experimental investigation on camera calibration for 3D photogrammetric scanning of micro-features for micrometric resolution. *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, 91(9-12), 2935-2947.
- 26 Frangione, A., Salmeron, A. S., Modica, F., & Percoco, G. (2019). Multi-step approach for automated scaling of photogrammetric micro-measurements. *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, 102(1-4), 747-757.
- 27 Stroustrup, N., Ulmschneider, B. E., Nash, Z. M., López-Moyado, I. F., Apfeld, J., & Fontana, W. (2013). The *Caenorhabditis elegans* lifespan machine. *Nature methods*, 10(7), 665.
- 28 Churgin, M. A., Jung, S. K., Yu, C. C., Chen, X., Raizen, D. M., & Fang-Yen, C. (2017). Longitudinal imaging of *Caenorhabditis elegans* in a microfabricated device reveals variation in behavioral decline during aging. *Elife*, 6, e26652.
- 29 Puchalt, J. C., Sánchez-Salmerón, A. J., Guerola, P. M., & Martínez, S. G. (2019). *Active backlight for automating visual monitoring: An analysis of a lighting control technique for Caenorhabditis elegans cultured on standard Petri plates*. *PloS one*, 14(4), e0215548.
- 30 Yoon, S., Piao, H., Jeon, T. J., & Kim, S. M. (2016). *Behavior Analysis of C. elegans to Electrical Stimulus in a Highly Controlled Microfluidic Chip*. *Biophysical Journal*, 110(3), 652a-653a.
- 31 de Carlos, I., Valmas, N., Hiliard, M. A. & Lu H. *Laterally Orienting C. elegans Using Geometry at Microscale for High-Throughput Visual Screens in Neurodegeneration and Neuronal Development Studies*. (2012) Parada, L., Gualteros, A. & Sánchez, R. *Phenotypic characterization of the N2 strain of Caenorhabditis elegans as a model in neurodegenerative diseases*.

LISTA DE MATERIALES

La siguiente tabla muestra la relación de materiales, componentes y submontajes que conforman el sistema robotizado:

LISTA DE MATERIALES SISTEMA ROBOTIZADO CARTESIANO			
Nivel	Item	Cantidad (ud)	Fabricar/comprar
0	Sistema robotizado cartesiano	1	-
1	Estructura	1	-
2	T slot_6mm_400	4	Comprar
2	T slot_6mm_230	12	Comprar
2	Escuadra de ángulo_6mm	24	Comprar
2	Plancha de aluminio_1,5mm_340x340	1	Comprar
2	Tuercas en T deslizantes M5	68	Comprar
2	Tornillos avellanados M5x10mm	68	Comprar
2	Varilla roscada trapezoidal T8	2	Comprar
2	Varilla lisa 8mmx350	4	Comprar
2	Correa dentada GT2 2mm_paso (1 metro)	1	Comprar
2	Polea GT2 20 dientes 5mm	4	Comprar
2	Carril lineal	1	Comprar
2	Rodamiento de bolas 608ZZ	14	Comprar
2	Tabla de aluminio_2mm_180x170	1	Comprar
2	Tornillos M3	45	Comprar
2	Tuercas M3	41	Comprar
2	Tornillos M4	2	Comprar
2	Tornillos M2	6	Comprar
2	Vidrio hidrófilo 150x100	1	Comprar
2	Soportes varillas eje y	4	Fabricar
3	PLA	4	Comprar
2	Interfaz eje z con motor	1	Fabricar
3	PLA	1	Comprar
2	Interfaz varilla eje z	1	Fabricar
3	PLA	1	Comprar
2	Soporte varilla eje z	2	Fabricar
3	PLA	1	Comprar
2	Soporte PCB	1	Fabricar
3	PLA	1	Comprar
2	Soporte raspberry pi	1	Fabricar
3	PLA	1	Comprar
2	Soporte de la micropipeta y el carril lineal	1	Fabricar
3	PLA	1	Comprar
2	Abrazaderas	2	Fabricar
3	PLA	2	Comprar
2	Actuador del émbolo	1	Fabricar
3	PLA	1	Comprar
2	Soporte de la cámara	1	Fabricar
3	PLA	1	Comprar

2	Carro eje y	1	Fabricar
3	PLA	1	Comprar
2	Carro eje x	1	Fabricar
3	PLA	1	Comprar
1	Micropipeta	1	Comprar
1	Equipo de visión	1	-
2	Cámara raspberry pi	1	Comprar
2	Lente cámara raspberry pi	1	Comprar
2	Raspberry pi 3	1	Comprar
2	Bus cámara raspberry pi	1	Comprar
2	Monitor	1	Comprar
1	Equipo de control	1	-
2	Teensy 3.6	1	Comprar
2	Drivers A4988	5	Comprar
2	PCB	1	Fabricar
3	Placa de cobre	1	Comprar
2	Motores NEMA 17	4	Comprar
2	Motor NEMA 11	1	Comprar

Tabla 7. Lista de materiales (BOM).

PRESUPUESTO

CAPÍTULO 1. PRESUPUESTO DE ELEMENTOS PROVEÍDOS

En este capítulo se presupuestan todos aquellos elementos que se han adquirido del mercado y se han utilizado en el proyecto por la compra a proveedores externos:

PRESUPUESTO DE ELEMENTOS PROVEÍDOS			
Item	Cantidad (ud)	Precio/Ud (€)	Importe (€)
T slot_6mm_400	4	10,51	42,04
T slot_6mm_230	12	8,26	99,12
Escuadra de ángulo_6mm	24	0,58	13,92
Tabla de aluminio_1,5mm_340x340	1	3,76	3,76
Tuercas en T deslizantes M5	68	0,05	3,40
Tornillos avellanados M5x10mm	68	0,19	12,92
Varilla roscada trapezoidal T8	2	9,95	19,90
Varilla lisa 8mmx350	4	13,54	54,16
Correa dentada GT2 2mm_paso (1 metro)	1	3,41	3,41
Polea GT2 20 dientes 5mm	4	1,84	7,36
Carril lineal	1	82,00	82,00
Tabla de aluminio_2mm_180x170	1	2,24	2,24
Tornillos M3	45	0,06	2,70
Tuercas M3	41	0,10	4,10
Tornillos M4	2	0,45	0,90
Tornillos M2	6	0,10	0,60
Motores NEMA 17	4	10,83	43,32
Motor NEMA 11	1	11,93	11,93
Acoplamiento flexible 5mm	3	2,61	7,83
Rodamiento de bolas 608ZZ	14	0,34	4,76
Fuente de alimentación 12V	1	12,43	12,43
Cámara raspberry pi	1	27,94	27,94
Lente cámara raspberry pi	1	114,19	114,19
Raspberry pi 3	1	32,08	32,08
Bus cámara raspberry pi	1	7,29	7,29
Teensy 3.6	1	47,99	47,99
Drivers A4988	5	1,60	8,00
PCB	1	12,99	12,99
Monitor	1	66,00	66,00
Micropipeta	1	215,00	215,00
Vidrio hidrófilo 150x100	1	6,65	6,65
TOTAL			970,93

Tabla 8. Presupuesto de elementos proveídos.

Asciende el presupuesto de elementos proveídos a la expresada cantidad de NOVECIENTOS SETENTA EUROS CON NOVENTA Y TRES CÉNTIMOS.

CAPÍTULO 2. PRESUPUESTO DE ELEMENTOS IMPRESOS

El presupuesto de las piezas impresas en 3D se hará bajo el precio que las empresas externas cobran por sus servicios, que son de 8€/h de media. Para conocer el tiempo de impresión que tarda cada pieza en efectuarse se utiliza la herramienta CURA, que facilita esta información:

PRESUPUESTO DE ELEMENTOS IMPRESOS				
Item	Cantidad (ud)	tiempo de impresión (h)	Precio/h (€/h)	Importe (€)
Soportes varillas eje y	4	0,75	8	24
Interfaz eje z con motor	1	3,5	8	28
Interfaz varilla eje z	1	3,5	8	28
Soporte varilla eje z	2	0,75	8	12
Soporte PCB	1	0,3	8	2,4
Soporte raspberry pi	1	0,3	8	2,4
Soporte de la micropipeta y el carril lineal	1	4,15	8	33,2
Abrazaderas	2	0,35	8	5,6
Actuador del émbolo	1	0,5	8	4
Soporte de la cámara	1	0,62	8	4,96
Carro eje y	1	0,6	8	4,8
Carro eje x	1	4,6	8	36,8
			TOTAL	186,16

Tabla 9. Presupuesto de elementos impresos.

Asciende el presupuesto de elementos impresos a la expresada cantidad de CIENTO OCHENTA Y SEIS EUROS CON DIECISEIS CÉNTIMOS.

CAPÍTULO 3. PRESUPUESTO DE INGENIERÍA

En este capítulo se recogen todos los gastos del proyecto relacionados con la ingeniería:

PRESUPUESTO DE INGENIERÍA			
Concepto	Horas	Precio/hora (€)	Importe (€)
Trabajo de ingeniería	360	16,00	5760,00
Concepto	Importe (€)		
Licencia COMSOL		1349,00	
Licencia SOLIDWORKS		6600,00	
		TOTAL	13709,00

Tabla 10. Presupuesto de ingeniería.

Asciende el presupuesto de ingeniería a la expresada cantidad de TRECEMIL SETECIENTOS Y NUEVE EUROS.

CAPÍTULO 4. PRESUPUESTO TOTAL

El presupuesto total es de:

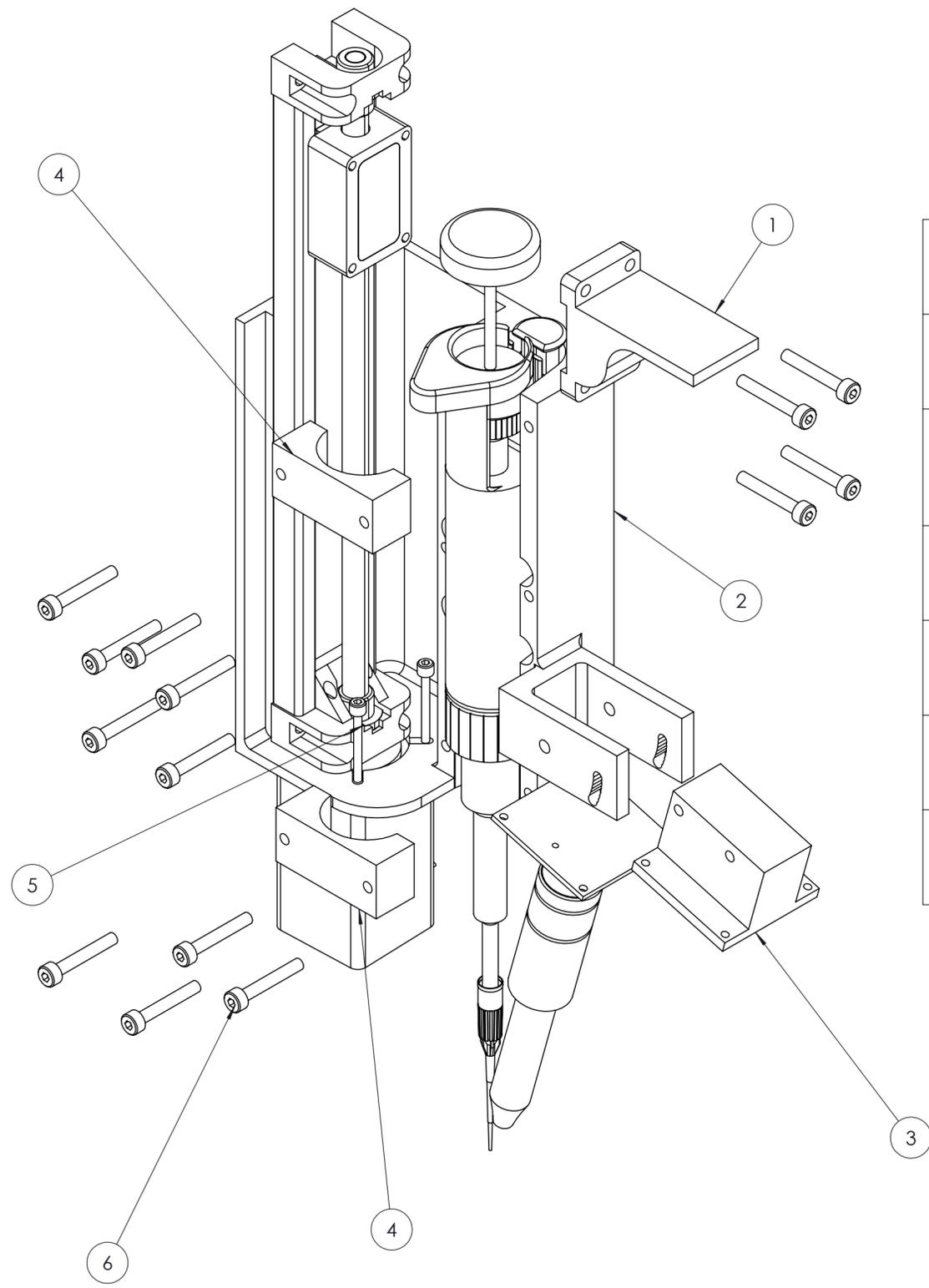
PRESUPUESTO TOTAL	
Concepto	Importe (€)
Elementos proveídos	970,93
Elementos impresos	186,16
Ingeniería	13709
TOTAL	14866,09

Tabla 11. Presupuesto total.

Nota: El IVA está incluido ya en todos los elementos.

Asciende el presupuesto total del proyecto a la expresada cantidad de CATORCEMIL OCHOCIENTOS SESENTA Y SEIS EUROS CON NUEVE CÉNTIMOS.

PLANOS



Nº DE ELEMENTO	PIEZA	CANTIDAD
1	Actuador del émbolo	1
2	Soporte de la micropipeta y del carril lineal	1
3	soporte de la cámara	1
4	Abrazadera	2
5	Tornillos M2X20	2
6	Tornillos M3X30	14

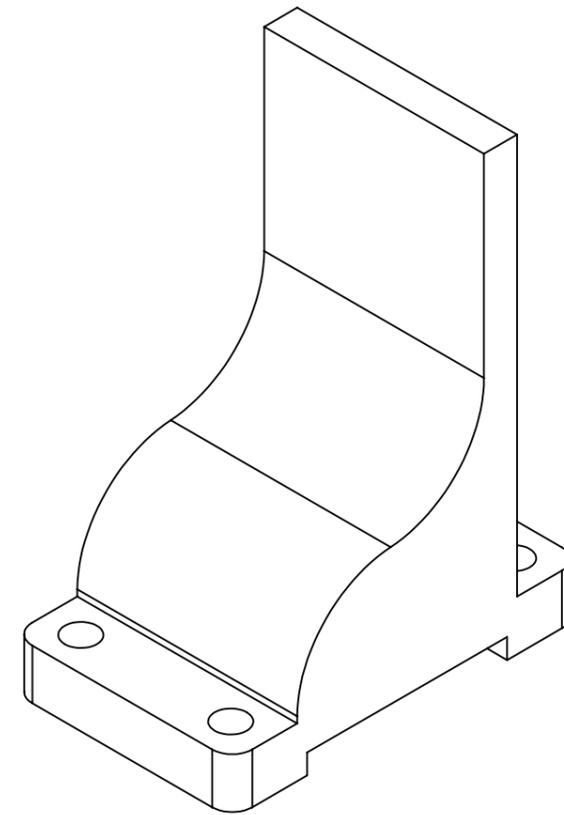
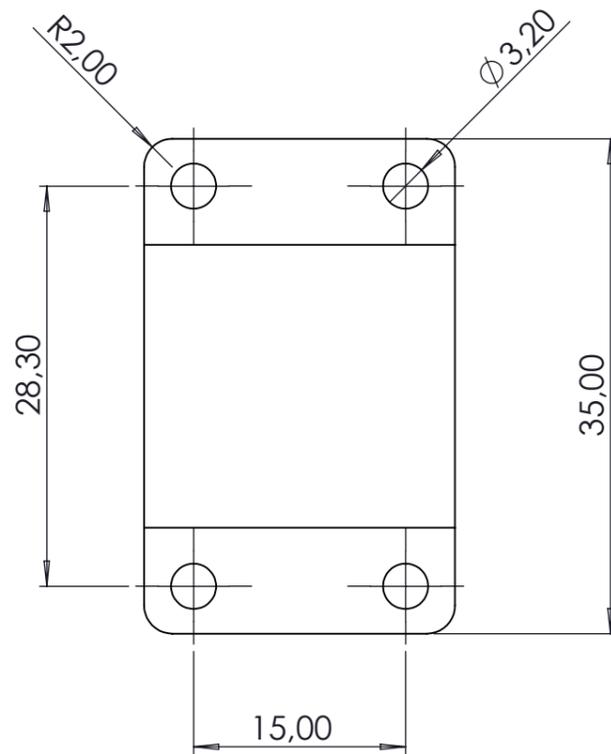
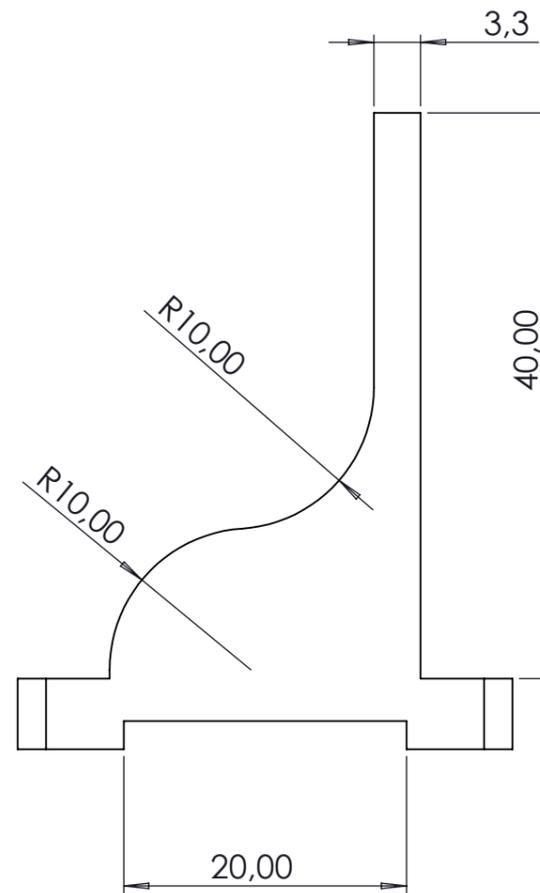
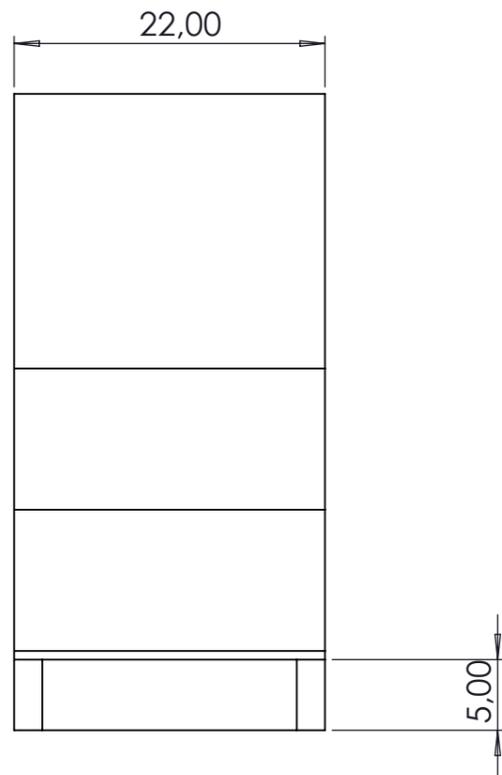
TRABAJO FIN DE MÁSTER EN INGENIERÍA INDUSTRIAL

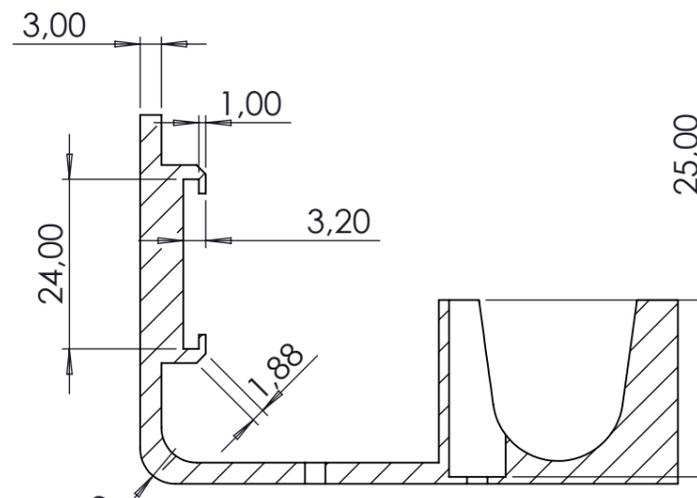
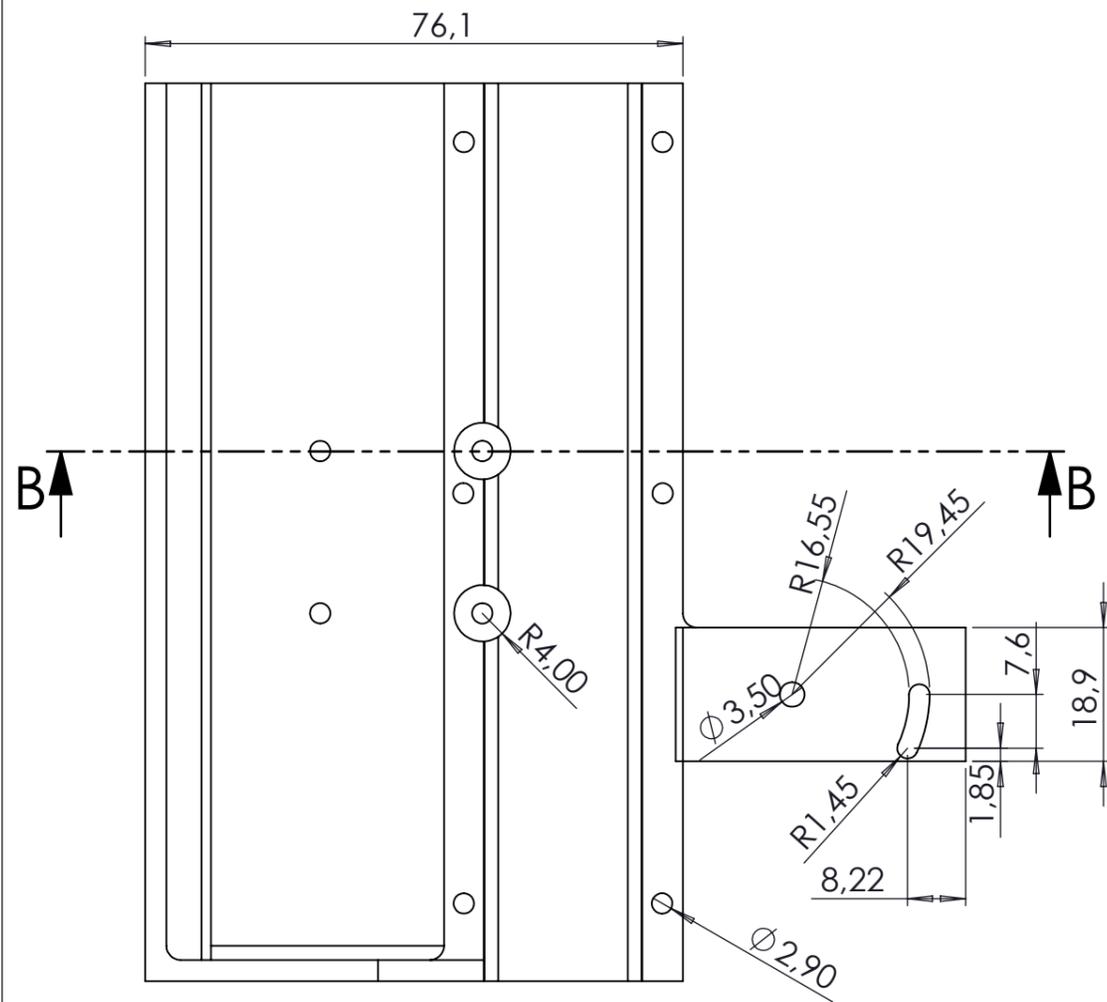



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA
 ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS INDUSTRIALES VALENCIA

Proyecto: **DISEÑO, DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE UN SISTEMA ROBOTIZADO PARA DOSIFICACIÓN DE MICROFLUIDOS**
 Fecha: Septiembre 2019 Escala: 1/1
 Plano: Vista explosionada Nº Plano: 1

Eduardo Martínez Flores
Autor proyecto





SECCIÓN B-B
ESCALA 1 : 1

